

**Experimentelle Pankreastransplantation
- Untersuchungen am zervikal
transplantierten
caninen Pankreassegment**

Manfred Johannes Stangl

**Aus dem Transplantationszentrum
(Leiter: Prof. Dr. W. Land)
der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. G. Heberer)
und dem Institut für Chirurgische Forschung
der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. W. Brendel)**

**Experimentelle Pankreastransplantation
- Untersuchungen am zervikal
transplantierten
caninen Pankreassegment**

Dissertation

**zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von
Manfred Johannes Stangl
aus
Aschau / Inn
Jahr
1987**

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter:

Prof. Dr. W. Land

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. W. Brendel

Prof. Dr. A. Baethmann

**Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:**

Dekan:

Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 11. 06. 1987

Mathematisches Institut der Universität Bonn
am 1. April 1907

Herrn Prof. Dr. W. Land

Herrn Prof. Dr. W. Land

Herrn Prof. Dr. W. Land

Herrn Prof. Dr. W. Land

Herrn Prof. Dr. A. Hurwitz

Mathematisches Institut der
Universität Bonn

Bonn

Herrn Prof. Dr. W. Land

Herrn Prof. Dr. W. Land

Gliederung

I Einleitung

Seite

1.1.	Klinische Bedeutung der Pankreastransplantation	1
1.2.	Historischer Überblick	2
1.3.	Fragestellung des Experimentes	5

II Methodik

2.1.	Die Versuchsanordnung	6
2.2.	Die Versuchstiere	6
2.3.	Präoperative Phase	7
2.4.	Die Narkose	7
2.5.	Intraoperative Überwachung	9
2.6.	Chirurgisch-technisches Vorgehen	10
2.6.1.	Explantation des Pankreas	10
2.6.2.	Behandlung des Transplantates während der kalten Ischämie	15
2.7.	Vollständige Pankreatektomie	17
2.8.	Cervikale Implantation des linken Pankreaslappens	24
2.8.1.	Mit distalen AV-Shunt	24
2.8.2.	Ohne distalen AV-Shunt	26
2.8.3.	Implantation des linken Pankreaslappens	26
2.9.	Postoperative Überwachung	29
2.10.	Überprüfung der vollständigen Pankreatektomie	30

2.11.	Medikamentöse Beeinflussung der Transplantatpankreatitis und deren Folgen	31
2.11.1.	Gangocclusion mit Ethibloc [®]	31
2.11.2.	Antiödematöse Therapie mit Venalot [®]	33
2.12.	Messung der Durchblutung des Transplantates	35
2.12.1.	Theoretische Grundlagen und methodische Voraussetzungen	35
2.12.2.	Messung der Radioaktivität	37
2.12.3.	Technische Durchführung der Durchblutungsmessung	40
2.12.4.	Berechnung der Durchblutung	43
2.13.	Funktionelle und morphologische Funktionsbeurteilung	45
2.13.1.	Blutzucker	45
2.13.2.	Glucosetoleranztest	47
2.13.3.	Lipase-Bestimmung	48
2.13.4.	α -Amylase-Bestimmung	49
2.13.5.	Insulinbestimmung	50
2.13.6.	Histologische Untersuchung	51
2.14.	Allogene Transplantation	52
2.14.1.	Die Versuchstiere	52
2.14.2.	DLA-Typisierung	52
2.14.3.	Immunsuppression	53
2.15.	Feinnadelaspirationszytologie	53
2.15.1.	Technische Durchführung	54
2.15.2.	Bewertungskriterien des gewonnenen Aspirats	55

2.16. Versuchsreihen	58
2.16.1. Einfluß der anatomischen Variationen der Arteria pancreatica	58
2.16.2. Einfluß eines distalen AV-Shunt auf die Thromboserate der A.lienalis, quantitative Messung der Durchblutung mit radioaktiven Microspheres	59
2.16.3. Einfluß von Benzo-Pyrenen auf das postoperative Speichelödem	59
2.16.4. Einfluß von CyA auf die Pankreas- fibrose	60
2.16.5. Erkennung einer Transplantatabstoßung mit Hilfe der Feinnadelaspirations zytologie	60

III Ergebnisse

3.1. Durchführung der Experimente und dabei aufgetretene Komplikationen	61
3.1.1. Komplikationen, die zum Abbruch der Experimente führten	61
3.1.2. Komplikationen, die zum vorzeitigen Tod der Versuchstiere führten	62
3.2. Die anatomischen Variationen der Arteria pancreatica	64
3.3. Quantitative Durchblutungsmessung mit und ohne distalen AV-Shunt	68

3.3.1.	Mit distalen AV-Shunt	68
3.3.2.	Ohne distalen AV-Shunt	68
3.3.3.	Vergleich der beiden Operationsmethoden	71
3.4.	Das Speichelödem unter Venalot ^R -Therapie	73
3.5.	Das Ausmaß der Transplantatfibrose unter CyA-Therapie	77
3.6.	Abstoßungsdiagnose mit Hilfe der Feinnadelaspirationszytologie	87

IV Diskussion

4.1.	Die Verwendung des caninen Transplan- tationsmodells zur Studie chirurgischer Probleme der Pankreassegment- transplantation	91
4.1.1.	Anatomische Variationen der Gefäßver- sorgung des linken Pankreaslappens beim Hund	91
4.1.2.	Unterschiedliche operative Methoden zur Verbesserung der Transplantat- durchblutung	93
4.2.	Unterdrückung der Transplantatpankreatitis durch Reduktion des postoperativen Speichelödems mit medikamentöser Therapie	98
4.3.	Langzeitergebnisse unter Immunsuppression im allogenen Modell	101
4.4.	Möglichkeiten des rechtzeitigen Erkennens einer Abstoßungskrise	105

**4.5. Beurteilung des Versuchsmodells und
und mögliche Modifikationen**

107

V Zusammenfassung

109

VI Literaturverzeichnis

110

I Einleitung

1.1 Klinische Bedeutung der Pankreastransplantation

Von den verschiedenen Funktionen des Pankreas, sowohl exokrin als auch endokrin, stellt die Regulation des Kohlehydratstoffwechsels den wichtigsten Teilaspekt dar (69). Bei einem kompletten Ausfall der Insulinproduktion kommt es im Körper zu Hyperglykämie und Ketoazidose (12). Nach der Entdeckung des Insulins durch Banting und Best 1920/21, gelang es durch externe Zufuhr von gereinigtem Schweine- bzw. Rinderinsulin die lebensbedrohlichen Komplikationen des Insulinmangels zu beherrschen. Es stellte sich jedoch heraus, daß eine Dauertherapie mittels externer Insulinzufuhr bei einem Großteil der Patienten die sog. diabetischen Spätkomplikationen nicht zu verhindern vermag (89). Auch bei exakter Blutzuckereinstellung, entsprechender kohlehydratarmer Diät sowie dauernder ärztlicher Überwachung kommt es im Spätstadium der Erkrankung zu angiopathischen, neuropathischen, retinopathischen und nephropathischen Veränderungen (45,70,87). Diese Spätfolgen, vor allem an der Niere (Kimmelstiel-Wilson-Syndrom) (89) und an den Gefäßen (Coronarsklerose) führen besonders beim Typ I -Diabetiker (Insulin dependent Diabetes mellitus) zu einer signifikanten Verringerung der Lebenserwartung (61). Die Ursache der Progredienz diabetischer Spätkomplikationen ist derzeit noch umstritten. Ziel einer adäquaten Therapie muß es daher sein, eine dem physiologischen Zustand beim Gesunden möglichst nahe kommende Regulation des Blutzuckerspiegels zu erreichen. Eine

der Möglichkeiten auf diesem Weg stellt die segmentale Pankreastransplantation dar (100). Man erhofft sich dabei die mikro- und makroangiopathischen Veränderungen zu verhindern, bzw. zum Stillstand zu bringen. Bei weltweit ca. 3% Typ I-Diabetikern in der Bevölkerung, von denen ca. 50% Spätkomplikationen entwickeln, besteht eine große Nachfrage nach einer suffizienten Therapie dieses Leidens.

1.2. Historischer Überblick

Es gibt derzeit drei verschiedene Möglichkeiten eine optimale Einstellung des Kohlehydratstoffwechsels zu erreichen.

Die erste Möglichkeit besteht in einem extern tragbaren oder implantierbaren Insulindosier- und Abgabegerät. Diese Geräte arbeiten nach dem open-loop-Prinzip, dies bedeutet, daß die Insulinabgabe aus dem Dosierapparat durch den Patienten entsprechend einer Blutzuckerselbstkontrolle gesteuert wird. Dieses Verfahren setzt jedoch eine hohe Bereitschaft des Patienten zur Blutzuckerselbstkontrolle sowie eine umfassende Schulung über das Verhalten des Patienten bei sportlicher Betätigung, täglicher Körperhygiene und zeitverschobenen Mahlzeiten voraus. In bisherigen Versuchen an Patienten traten außerdem Störungen der Glukagongegenregulation auf, die zu schweren Hypoglykämien führten (27,112).

Die zweite Möglichkeit besteht in der endokrinen Substitution durch Transplantation isolierter Langerhansscher Inselzellen (57). Das Hauptproblem dieses Verfahrens besteht in der Gewinnung transplantierbarer Inselzellen. Sowohl die Separation vom

exokrinen Gewebe, wie die Präparation der B-Zellen zur Transplantation, als auch das Erzielen einer genügend großen Ausbeute stellen große technische Schwierigkeiten dar. Darüber hinaus wird die in die V.portae oder V.linealis injizierte Zellsuspension fulminant abgestoßen (1,14,15,35,51,87, 98,99,100,101,102,103).

Die dritte Möglichkeit stellt die Transplantation von vaskularisiertem Pankreasgewebe dar. Bei den ersten Versuchen wurde von Lillehei 1966 eine Transplantation von Pankreas und Duodenum durchgeführt. Dieses Verfahren wird jedoch heute wegen der Vielzahl von Komplikationen ausgehend vom Duodenum, wie Nekrose und Perforation nicht mehr angewandt (9,36,72,73). Derzeit wird nur noch die Transplantation eines Pankreassegments (Corpus und Cauda pancreatis) durchgeführt. Hierbei gibt es aktuell zwei konkurrierende chirurgische Verfahren. Bei Erstem erfolgt eine Anastomose des Ductus pancreaticus mit einer nach Roux ausgeschalteten Dünndarmschlinge oder dem Ureter (36,37,42,43,44). Da in Abwesenheit der Enterokinase die Proenzyme des Pankreas nicht aktiviert werden können, wurde von Sutherland die Ableitung des endokrinen Bauchspeichelsekretes in die freie Bauchhöhle versucht (6,10,26,104).

Bei Zweitem wird der Ductus pancreaticus mit einer schnell härtenden Prolaminlösung okkludiert (8,23,34,67,74).

Ein Vergleich der weltweit zwischen 1977 und 1981 durchgeführten Operationen (siehe Abb. 1) zeigt, daß die Gangocclusion die derzeit erfolgversprechenste Methode darstellt (102,105).

	Anzahl	Funktionierende Organe
Roux-Y-pancreatico- jejunostomy	21	0
Gangocclusion	71	11

Abb 1: Vergleich der zwischen 1977 und 1981 durchgeführten Operationsmethoden

1.3. Fragestellung des Experimentes

Ziel der Versuche war es, die vielfältigen Probleme der Pankreassegmenttransplantation in einer experimentellen Studie an Hunden zu untersuchen. Im Einzelnen versuchten wir mit unseren Versuchsreihen an Beagles und Schäferbastarden folgende Fragen zu beantworten:

1. Welchen Einfluß haben die anatomischen Variationen der A.pancreatica auf die chirurgische Technik der segmentalen Pankreastransplantation am Hund?
2. Wird durch die Anlage eines distalen AV-Shunt es die Durchblutung des Transplantates verbessert und die Thromboserate gesenkt?
3. Kann mit Hilfe von Benzo-Pyrenen das postoperative Speicheldrüsengewebe positiv beeinflußt werden?
4. Welchen Einfluß hat die Immunsuppression mit CyA auf die Transplantatfibrose beim Pankreas?
5. Ist eine Abstoßungsdiagnose mit Hilfe der Feinnadelaspirationszytologie möglich?

II Methodik

2.1. Die Versuchsanordnung

Ein Experiment umfaßte jeweils 3 Operationen und die laborchemischen Untersuchungen. In den Versuchsreihen mit autologer Transplantation wurden die Tiere zuerst vollständig pankreatektomiert und sodann in der gleichen Sitzung der linke Lappen des Pankreas autolog am Hals des Tieres implantiert. Am Ende des Experiments wurde das Transplantat operativ entfernt und histologisch untersucht. Anschließend war es möglich an Hand der diabetischen Stoffwechsellage der Tiere die Vollständigkeit der Pankreatektomie zu überprüfen. In der Versuchsreihe der allogenen Transplantation wurde kreuzweise transplantiert (Hund A erhielt das Pankreas von Hund B und umgekehrt). Am Ende der Experimente wurden die Transplantate ebenfalls entfernt und nach Eintritt einer diabetischen Stoffwechselsituation wurden die Tiere, ebenso wie in der autologen Versuchsreihe, mit Pentobarbital-Natrium (Nembutal®) eingeschläfert.

2.2. Die Versuchstiere

In der Reihe der autologen Transplantationen wurden gemischtrassige Hunde beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht zwischen 15 und 30kg verwendet.

In den allogenen Transplantationsgruppen kamen Geschwistertiere großer Beagle-Familien zur Anwendung. Das Körpergewicht betrug zwischen 12 und 16kg. Das Alter der Tiere lag bei den

gemischtrassigen Hunden zwischen 2 und 6 Jahren, während die Beagles zwischen 1 und 2 Jahren alt waren.

2.3. Präoperative Phase

Alle Tiere wurden zum Ausschluß eines bestehenden Infektes in 2-tägiger Quarantäne gehalten. Mindestens 12 Stunden vor der Operation erhielten die Hunde keine Nahrung mehr.

Nach Säuberung des Felles wurde das Operationsgebiet großzügig nach kranial bis zum Sternum, nach caudal bis über die Leistenbeugen und nach lateral bis zu den Flanken mit einem Elektrorasierer enthaart.

2.4. Die Narkose

Es kamen im Laufe der Experimente 2 verschiedene Narkoseformen zum Einsatz. Abhängig von der Dauer des operativen Eingriffes verwendeten wir für die Transplantation der Organe eine Inhalationsnarkose und für die am Ende der Versuche durchgeführte Explantation eine intramuskulär verabfolgte Ketamin-Narkose. Zur Einleitung der Inkalationsnarkose erhielten die Tiere eine halbe Stunde vor Operationsbeginn 0,5mg Atropin als Parasympatholytikum zur Unterdrückung vagaler Kreislaufregulationsstörungen und zur Hemmung der Bronchialsekretion. Zum gleichen Zeitpunkt erhielten die Tiere zusätzlich 0,02mg/kg Körpergewicht Propionyl-Phenothiazin (Combelen[®]) zur Blockade der zerebralen und peripheren allgemeinen Reflexerregbarkeit, sowie zur Sedation. Unmittelbar vor Operationsbeginn wurde 0,2ml/kg Körpergewicht

Levomethadon-hydrochlorid (I-Polamivet[®]) als zentral spasmolytisch und vagolytisch, sowie besonders stark analgetisches Medikament intravenös appliziert. Durch oben beschriebene Kombination von Arzneimitteln zur Narkosepraemedikation erreichten wir einen analgetischen Dämmer Schlaf, der eine problemlose Intubation der Versuchstiere ermöglichte. Zur Intubation wurde das Maul der Tiere von einem Helfer mittels einer Maulschlinge gespreizt und mit der linken Hand ein gerader Larynxspatel eingeführt. Nach Darstellung der Plica-vocalis wurde unter Sicht ein Gummi-Endotrachealkatheter mit aufblasbarer Manschette ohne Mandrin in die Trachea geschoben.

Zu Beginn der Inhalationsnarkose erfolgte nun eine 2-3 minütige Beatmung mit 3-4% Halothan im Lachgas-Sauerstoffgemisch. Es folgte dann eine Reduktion der Halothan-Dosis, so daß für die gesamte Dauer der Operation eine Mischung aus 0,4-0,8% Halothan, 60% Lachgas und 40% Sauerstoff, bei einem Atemminutenvolumen von 4-5l/min und einer Atemfrequenz von 16 Atemzügen/min gegeben wurde. Bei Operationsende wurde die Halothangabe eingestellt und bis zum Wiedereintritt der Spontanatmung mit Raumluft beatmet.

Die Beatmung erfolgte durch einen Narkoseapparat mit teilweiser Rückatmung (halbgeschlossenes System).

Durch individuelle Schwankungen der Ansprechbarkeit der Tiere auf die Narkosemedikation kam es in einigen Fällen zu einem bis zu 1 Stunde anhaltenden Nachschlaf infolge der Levomethadon (Polamivet[®])Medikation. Dieser Polamivet-Schlaf wurde durch die Gabe von 0,1ml Levallorphan (Lorfan[®]) je 1ml verabreichten Polamivet[®] unterbrochen.

Für kurze chirurgische Eingriffe (bis zu einer halben Stunde) wurde eine intramuskuläre Injektion von Ketamin (Ketanest[®]) gewählt. Bei einer Dosierung von 5-7mg/kg Körpergewicht Ketanest erreichten wir eine ausreichende Analgesie bei oberflächlichem Schlaf. Da Ketanest per se keine Muskelrelaxation verursacht, blieben Pharyngeal- und Laryngeal-, sowie alle übrigen protektiven Reflexe erhalten, so daß keine maschinelle Beatmung nötig war. Aufgrund der geringen Toxizität der Substanz konnte bei Ausweitung des chirurgischen Eingriffes problemlos nachinjiziert werden (25). Als auffälligste Nebenwirkung zeigte sich, daß die Tiere unter dieser Narkose besonders empfindlich auf Lärm reagierten. Bei ruhiger Umgebung wurde die Narkose jedoch problemlos toleriert und es war ein ungestörtes chirurgisches Arbeiten möglich.

2.5. Intraoperative Überwachung

Während der Operation erhielten die Hunde über die Vena cephalica antebrachii 500ml Laevulose und 500ml physiologische Kochsalzlösung, sowie zur antibiotischen Prophylaxe 4g Cefotaxim (Claforan[®]). Die Überwachung der Kreislauffunktion erfolgte mit subkutan abgeleiteten Nadelelektroden an einem Ekg-Monitor. Über einen an einer zweiten Pfote in die Vena cephalica antebrachii eingeführten Katheter erfolgte eine kontinuierliche Messung des Zentralen Venendrucks (ZVD).

2.6. Chirurgisch technisches Vorgehen

2.6.1. Explantation des Pankreas

Etwa 2cm caudal des Processus xiphoideus beginnend wird eine mediane Laparatomie von ca. 25-30cm Länge durchgeführt. Die Blutstillung erfolgt bei großen Gefäßen (Durchmesser über 3mm) mittels Ligatur mit Sutupak^R Leinenzwirn der Stärke 3-0, bei kleinen Gefäßen mit dem Elektro kauter. Nachdem das meist mit dem Peritoneum parietale locker verwachsene Omentum majus stumpf mit der Hand abgedrängt worden ist, werden in die rechte und linke Peritonealwand feuchtwarme Bauchtücher eingelegt. Sodann erfolgt das Einsetzen eines anatomischen Bauchdeckenhalters (nach Fritsch). Der Magen wird zur besseren Darstellung der Gefäße entlang der großen Kurvatur mit einer Allis-Klemme (zum Schutz der Magenwand wird ein feuchter Tupfer dazwischen gelegt) unter leichtem Zug nach cranial gehalten. Nun werden die im Ligamentum gastrolienale von Arteria und Vena gastroepiploica sinistra zum Milzhilus verlaufenden Gefäße dargestellt und durchtrennt. Dabei werden die am Magen verbleibenden Gefäßstümpfe mit Hilfe einer Overholt-Klemme ligiert, die am Milzhilus mit Hilfe eines Elektro kauters koaguliert. Nach Durchtrennung des Ligamentum phrenicolienale in gleicher Weise wird die Milz nur mehr über die Arteria und Vena lienalis versorgt (siehe Abb.2). Anschließend wird das Ligamentum gastrocolicum durchtrennt. Dabei muß darauf geachtet werden, daß die an der großen Kurvatur des Magens verbleibenden Gefäßstümpfe nicht zu kurz sind, da es durch miterfassen der Vasa gastrica brevia zu partiellen Magenwandnekrosen kommen kann. Nach sorgfältiger

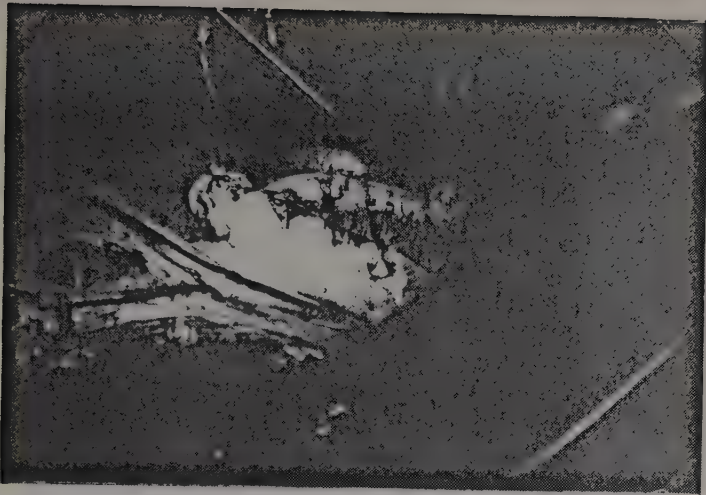


Abb 2: Darstellung der A. und V. lienalis, sowie des linken Pankreaslappens im Milzhilus

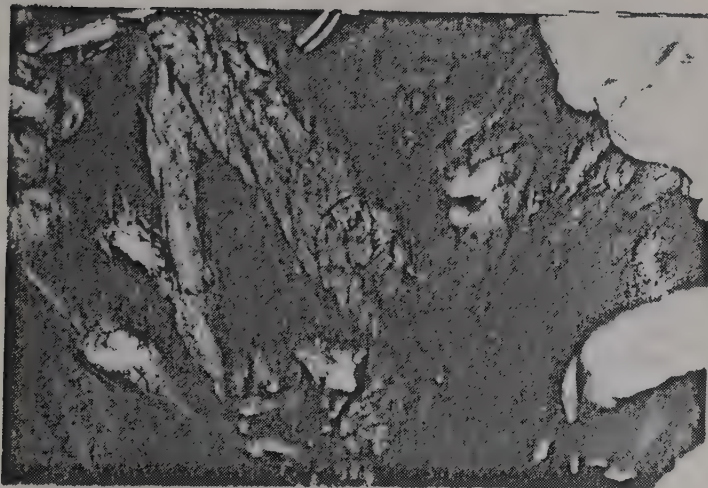


Abb 3: Darstellung des caninen Pankreas: Rechter Lappen am Duodenum, linker Lappen im Milzhilus, Mittelstück nicht sichtbar

Blutstillung und unter Beachtung einer ausreichenden Durchblutung an den voneinander getrennten Organen, ist jetzt der Zugang zum Pankreas frei. Das Pankreas des Hundes gliedert sich in einen rechten und in einen linken Lappen, sowie ein Mittelstück (81) (siehe Abb.3).

Nach Aufsuchen des Truncus coeliacus werden die Arteria hepatica communis, die Arteria gastrica sinistra und die Arteria linealis sorgfältig von dem sie umgebenden Fett- und Lymphgewebe freipräpariert und dargestellt. Die Vena linealis wird nun von der Milz bis zu ihrer Einmündung in die Vena mesenterica inferior dargestellt und proximal der V.mesenterica communis mit einem Halteband angeschlungen. Jetzt erfolgt die Präparation der Arteria linealis vom Truncus coeliacus aus bis zum Beginn des linken Pankreaslappens, proximal davon wird das Gefäß ebenfalls mit einem Halteband angeschlungen. Nachdem das Fett- und Lymphgewebe zwischen Arteria und Vena lienalis durchtrennt worden ist, erfolgt nun die Abtrennung des linken Pankreaslappens am Übergang zum Mittelstück (siehe Abb.4,5).

Nun wird nach exakter Präparation und unter genauester Beachtung des Versorgungsgebietes die Arteria gastrica sinistra (Anatomische Variationen siehe unter 3.2.) und die Vena coronaria ventriculi ligiert. Jetzt wird die Arteria lienalis im Bereich des Milzhilus mit einem Abbocath der Stärke 18 oder 20 kanüliert. Die Kanüle wird sorgfältig in die Arterie eingenäht und anschließend das Ligamentum pancreaticolienale mit Arteria und Vena lienalis im Milzhilus durchtrennt und die Milz entfernt (siehe Abb.6). Bei den nun folgenden Operationsschritten kommt es, um eine möglichst kurze warme Ischämiezeit des linken Pankreaslappens zu erreichen,

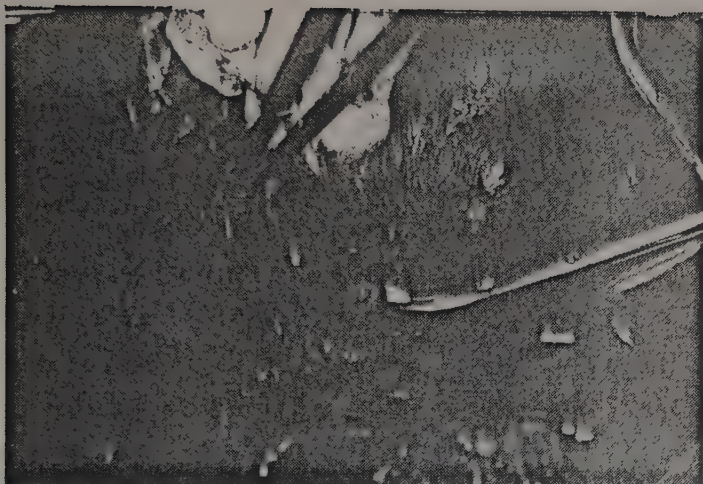


Abb 4: Abklemmen des linken Pankreaslappens mit zwei Overholt-Klemmen,
A. und V. lienalis mit Haltebändern angeschlungen

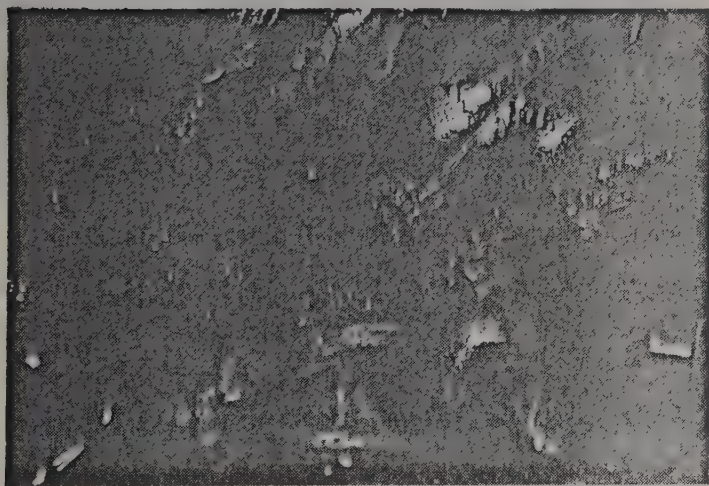


Abb 5: Linker Pankreaslappen abgetrennt

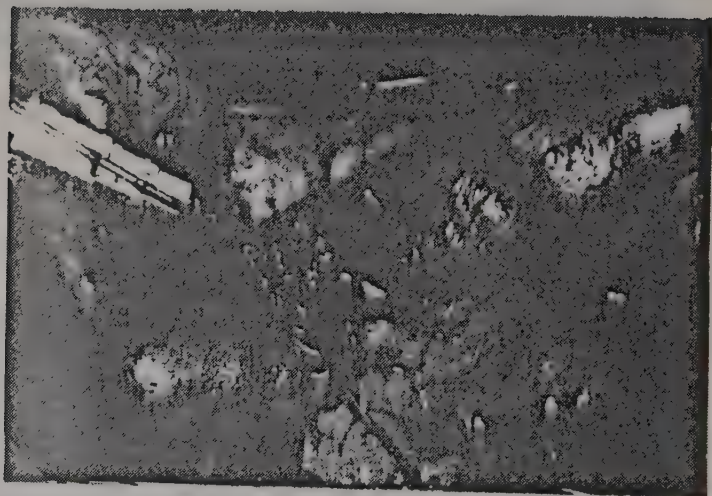


Abb 6: Kanülierung der A. lienalis zur retrograden Perfusion

darauf an, die einzelnen chirurgischen Schritte exakt und schnell durchzuführen.

Zunächst wird die Arteria lienalis unmittelbar nach ihrem Abgang am Truncus coeliacus abgeklemmt. (Beginn der warmen Ischämiezeit siehe Abb.7). Sodann wird die Vena lienalis an ihrer Einmündung in die Vena mesenterica communis durchtrennt.

Gleichzeitig wird mit einer retrograden in-situ-Perfusion des linken Pankreaslappens begonnen (Perfusionsflüssigkeit siehe Abb.8).

Nach Durchtrennung der A.lienalis am Truncus coeliacus wird das Organ aus der Bauchhöhle entfernt und in Eiswasser gelegt. (Ende der warmen, Beginn der kalten Ischämiezeit)

2.6.2. Behandlung des Transplantates während der kalten Ischämie

Nachdem bereits in situ mit der Perfusion des Transplantates begonnen wurde, und man dabei sehr gut die retrograd beginnende Entfärbung des Organs beobachten konnte, wird der linke Pankreaslappen jetzt zur Kühlung in eine Schüssel mit 500ml kalter 0,9% Kochsalzlösung und 500ml kleinerhackter gefrorener 0,9% Kochsalzlösung gegeben. Dabei muß darauf geachtet werden, daß eine kontinuierliche Schwerkraftperfusion (h ca. 50-70cm) auch bei Manipulationen am Organ erhalten bleibt. Um eine Berührung des Transplantates mit Eisstücken zu vermeiden (eventuelle Gewebsschädigung) wird das Pankreas mit einem Bauchtuch geschützt. Nun wird im Resektionsquerschnitt der Ductus pancreaticus aufgesucht. Da dieser nur einen Durchmesser von ca. 0,1cm aufweist und sich oftmals hinter die Resektionsfläche retrahiert, ist in einigen Fällen eine Nachresektion nötig gewesen.

Versuchstier	t warm in min
H 1	22
H 2	21
H 3	23
H 4	17
H 5	22
H 6	20
H 7	35
H 8	23
H 9	20
H 10	27
$\bar{x} = 23 \text{ min} \pm 4,69$	

Abb 7: Warme Ischämiezeiten bei Explantation des linken Pankreaslappens in einer Versuchsreihe mit 10 Hunden

Lösung I 900 ml	Lösung II 100 ml
K_2HPO_4 7,40 g	KH_2PO_4 2,05 g
$NaHCO_3$ 0,84 g	KCL 1,12 g
	Glucose Monohydrat 38,50g
zusätzlich: 20.000 IE Heparin	
Osmolarität: 370 mosmol/l	ph 7,25

Abb 8: Zusammensetzung der Perfusionsflüssigkeit (Eurocollins-Biotest-Lösung bestehend aus 2 Komponenten)

Der Ductus pancreaticus wird nun mit 2 Haltefäden Prolene der Stärke 7-0 fixiert und mit einem Abbocath der Stärke 24 kanüliert (siehe Abb.9,10).

Jetzt erfolgt unter sanften Druck die Installation von 0,1 bis 0,5ml Prolamin (Ethibloc^R, Zusammensetzung siehe Abb.11) zur Occlusion des Gangsystems. Anschließend wird die vollständige Ausfüllung radiologisch kontrolliert (Bedeutung von Ethibloc^R siehe unter 2.11.1). Der Resektionsquerschnitt, sowie der Ductus pancreaticus werden jetzt ligiert und das Organ bis zur Implantation in der Eiswasserschüssel aufbewahrt. Für die Dauer von ca. 20-30 min wird dabei mit ca. 100-200ml EurocollinsLösung (siehe Abb.8) perfundiert. Die Perfusionsflüssigkeit wurde ebenfalls auf eine Temperatur von ca. 4°C abgekühlt.

Nach Ende der Perfusion wird das Organ unter sterilen Bedingungen gewogen. Das bis auf $\frac{1}{10}$ gr. exakt gemessene Gewicht stellt den Ausgangswert für unsere später geschilderten Untersuchungen dar. Die kalte Ischämiezeit betrug bei autologer Transplantation durchschnittlich 1 Stunde, bei allogener Transplantation durchschnittlich 5 Stunden.

2.7. Vollständige Pankreatektomie

Um die tatsächliche Funktion der transplantierten Organe zu überprüfen, war es notwendig, beim Empfängertier eine vollständige Pankreatektomie durchzuführen. Diese Operation mußte sehr sorgfältig ausgeführt werden, da frühere Versuche (11,32,52,75) gezeigt haben, daß bereits ein Restgewebe von 5% des endokrinen Pankreas ausreicht, eine normoglykämische Stoffwechsellaage zu erhalten.

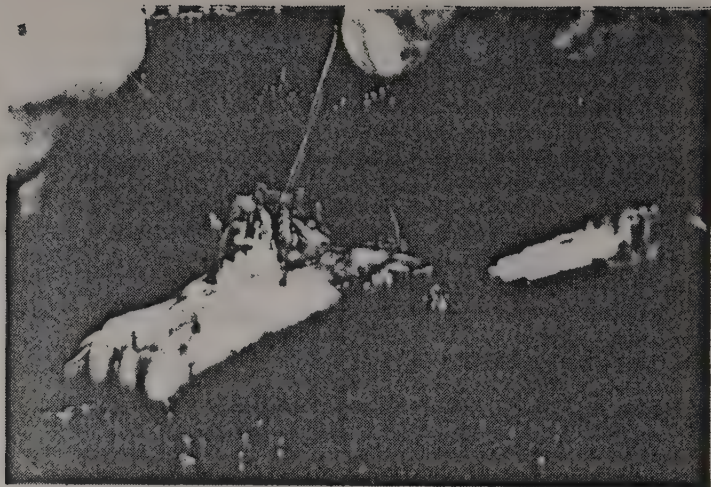


Abb 9: Darstellung des Ductus pancreaticus zur Injektion von Ethibloc^R
(während der kalten Ischämie)

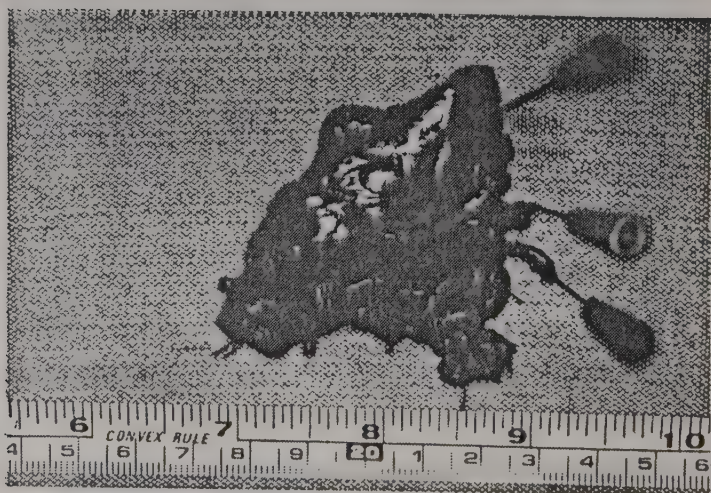


Abb 10: Linker Pankreaslappen vor Implantation (braun: A.lienalis;
blau: V.lienalis; gelb: Ductus pankreaticus)

Zein	210,00 mg/ml
Natriumamidotrizoat- tetrahydrat	162,00 mg/ml
Oleum Papaveris	145,00 mg/ml
Propylenglykol	6,00 mg/ml

Abb 11: Zusammensetzung der alkoholischen Aminosäurelösung Prolamin (Ethibloc^R)

Das Pankreas des Hundes ist in zwei Lappen geteilt. Der rechte, sehr dünne Lappen liegt im Gekröse des Duodenums. Von Beginn des Duodenum descendens an bestimmt dieses die Form des rechten Pankreaslappens. Dieser umwickelt dabei die pankreaticoduodenalen Gefäße, welche Äste zum Pankreas und Duodenum abgeben. Das in situ sehr eng am Duodenum anliegende Organ kann, weil das Mesoduodenum sehr locker ist, von der Wand des Duodenums vorsichtig bis zu 1,5 cm weit weggezogen werden. Der rechte Pankreaslappen erreicht eine Länge bis zu 15 cm, bei einer Breite bis zu 3,5 cm und einer Dicke bis zu 1,5 cm. Der kraniale Teil des Pankreaslappens verläuft schräg nach oben in Richtung des Pylorus, so daß dieser die ventrale Fläche des Organs formt. Der distale Anteil liegt in der Nähe des sublumbalen Fettgewebes, welches den Ureter enthält, sowie der ventralen Oberfläche der rechten Niere und das Lobus caudatus der Leber. Ventral wird der rechte Pankreaslappen in seinen caudalen Anteil von Ileum und Zökum bedeckt, im cranialen Anteil vom Kolon (siehe Abb.12). Der linke Pankreaslappen, der ca. $\frac{2}{3}$ so groß ist wie der rechte, beginnt am Angulus pancreaticus und zieht nach links-caudal. Seine dorsale Fläche grenzt an den Processus caudatus der Leber, die Vena portae, sowie am distalen Ende an die Milz. Der ventrale Teil liegt caudal dem Colon transversum und cranial der Hinterwand des Magens an. Bei gefülltem Magen verändert sich die anatomische Lage des Pankreas.

Die Blutversorgung erfolgt beim rechten Lappen arteriell durch Äste der Arteria pancreaticoduodenalis, welche innerhalb der Drüse Anastomosen bilden. Die venöse Drainage erfolgt durch die Vena pancreaticoduodenalis, welche in die Vena mesenterica superior mündet. Der linke Pankreaslappen wird distal in erster

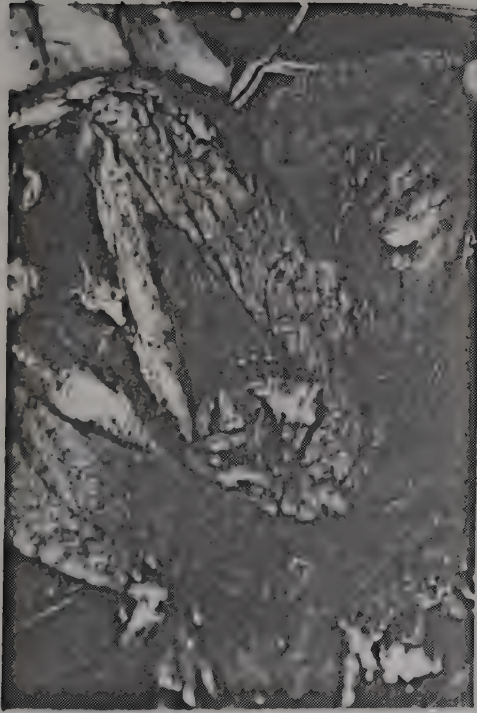


Abb 12: Oberbauchsitus mit Pankreas, Duodenum, Magen, Milz

Linie von Ästen der Arteria lienalis versorgt. (Anatomische Variationen siehe unter 3.2.). Der venöse Abfluß erfolgt beim linken Pankreaslappen über die Vena lienalis.

Die oben beschriebenen anatomischen Gegebenheiten beim Hund haben großen Einfluß auf die Operationstechnik, sowie den Operationserfolg. Das genaue Studium der Anatomie in situ ist deshalb unabdingbare Voraussetzung für eine exakte Explantation des Transplantates, sowie für eine vollständige Pankreatektomie des rechten Pankreaslappens.

Die Präparation des rechten Pankreaslappens beginnt mit dem Ablösen des Processus uncinatus. Dazu wird die hintere Schicht des Mesenteriums durchtrennt und die darin laufenden Gefäße werden ligiert. Jetzt kann man den Processus uncinatus leicht von der ventralen Schicht des Mesoduodenum ablösen. Den schwierigsten Teil der Operation stellt das Freipräparieren der Pankreaskante vom Duodenum descendens dar (siehe Abb. 13). Zwischen Pankreaskante und Duodenumwand wird die dorsale Schicht vorsichtig dargestellt und die pancreaticoduodenalen Gefäße kommen deutlich zum Vorschein. Die duodenalen Äste werden einzeln aufgesucht und vorsichtig präpariert, um sie so vor einer ungewollten Durchtrennung zu schützen. Die zum Pankreas ziehenden Gefäße werden dargestellt und mit Prolene 3-0 ligiert. In gleicher Weise wird der Ductus pancreaticus zwischen Duodenum und Pankreas durchtrennt und auf einen sorgfältigen Verschuß der duodenalen Seite geachtet. Am Ende dieses 1-2 Stunden dauernden Operationsvorganges sind die Pankreasäste vollständig ligiert und die duodenalen Äste liegen unbeschädigt in der Vorderschicht des Mesoduodenum (siehe Abb. 14). Jetzt wird am Angulus pancreaticus die Arteria gastroduodenalis, der Truncus coeliacus



Abb 13: Resektion des rechten Pankreaslappen



Abb 14: Duodenum freipräpariert. Duodenale Äste der A. und V. pankreaticoduodenalis unverletzt und gut durchblutet

und die Arteria hepatica communis aufgesucht. In einigen Fällen ziehen von diesen Gefäßen Äste zum Pankreas. Nach Durchtrennung und Ligatur liegt nun der rechte Pankreaslappen vollkommen frei in der C-Schleife des Duodenum und kann entfernt werden.

2.8. Cervicale Implantation des linken Pankreaslappens

Für die Implantation des Transplantates stehen verschiedene technische Möglichkeiten zur Verfügung. Üblicherweise erfolgt eine End-zu-Seit Anastomose mit der Arteria und Vena iliaca (7,58,59,62,78,82,86,114) oder den Femoralgefäßen. Da es für unsere Versuchsreihen nötig war einen einen leichten Zugang zum Transplantat (Feinnadelaspirationszytologie siehe unter 2.15.) und eine bereits makroskopische Beurteilung des Speichelödems (siehe unter 2.11.2.) zu ermöglichen, erfolgte die Implantation des linken Pankreaslappens am Hals der Tiere.

2.8.1. Mit distalen AV-Shunt

Bei einem Teil der Versuchsreihe wurde während der kalten Ischämiezeit distal des linken Pankreaslappens eine Seit-zu-Seit Anastomose zwischen Arteria- und Vena lienalis angelegt. Dazu wurden die Gefäßwände von Arterie und Vene an gegenüber liegenden Stellen auf eine Länge von 2-3mm aufgeschlitzt. Anschließend werden die beiden Gefäße mit 2 Haltefäden Prolene 7-0 aneinander fixiert. Die beiden Fäden werden geknotet und nacheinander die beiden Seiten der Anastomose fortlaufend genäht (siehe Abb.15).

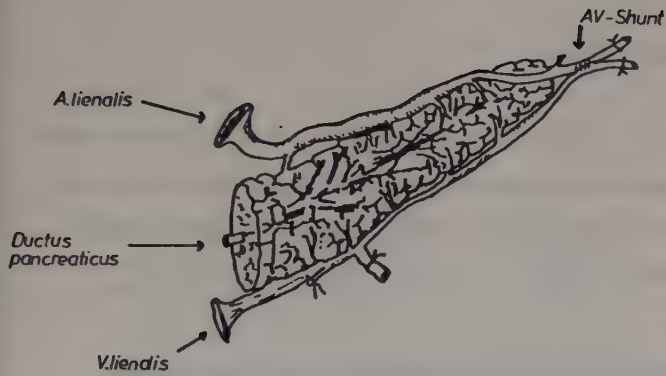


Abb 15: Linker Pankreaslappen mit distalen AV-Shunt

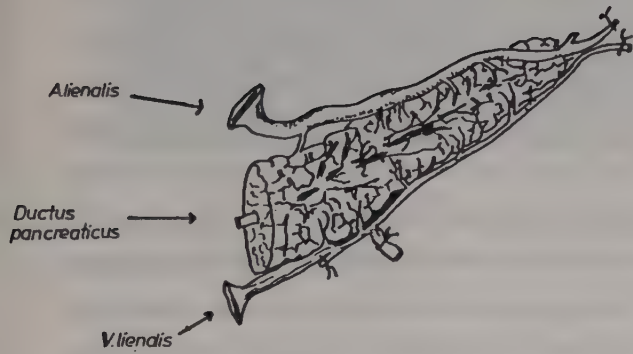


Abb 16: Linker Pankreaslappen ohne AV-Shunt

2.8.2. Ohne distalen AV-Shunt

Bei dem anderen Teil der Versuchsreihe wurde auf die sehr aufwendige Anlage eines AV-Shuntes verzichtet. Die Arteria und Vena lienalis wurden distal des linken Pankreaslappens lediglich ligiert (siehe Abb.16).

2.8.3. Implantation des linken Pankreaslappens

Nach exakter Rasur und Desinfektion des lateralen Halses, wurde im Bereich des Musculus sternocleidomastoideus eine ca. 8-10cm lange Incision gelegt. Anschließend wurde am Vorderrand des Musculus sternocleidomastoideus die Arteria carotis communis sowie die Vena jugularis externa aufgesucht. Ein Anschluß der Vena lienalis an die Vena jugularis interna ist beim Hund wegen des zu kleinen Lumens dieses Gefäßes nicht möglich (96). Die Unterbrechung der Blutzufuhr an der Arteria carotis communis während der Anastomosierung führte in keinem Fall zu einer erkennbaren Schädigung des Tieres. Die Anastomose erfolgte in End-zu-Seit Technik zwischen der Arteria lienalis und der Arteria carotis communis, sowie zwischen der Vena lienalis und der Vena jugularis externa. Als Nahtmaterial diente Prolene 6-0 (siehe Abb17,18). Während der gesamten Anastomosenoperation, die wegen der sehr kleinen Lumina der Gefäße sehr schwierig ist und zwischen 45 und 60min dauert, wird das Transplantat fortwährend mit 4°C kalter 0,5% Kochsalzlösung benetzt.

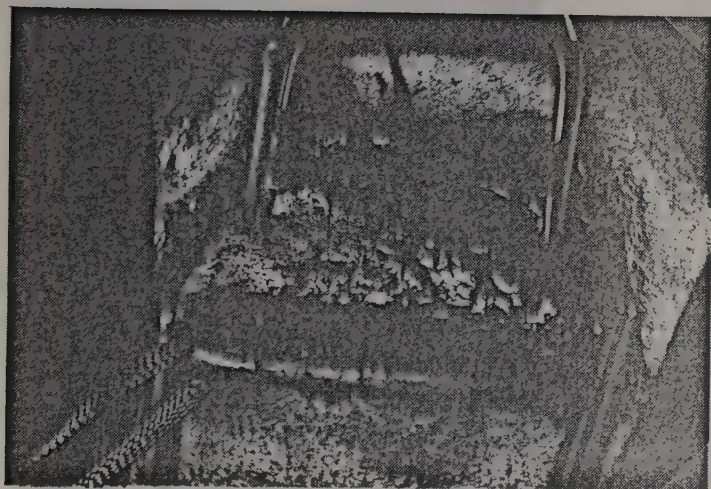


Abb 17: Präparation der Halsgefäße: A. carotis communis, V. jugularis externa, M. sternocleidomastoideus



Abb 16: Anastomosierung des linken Pankreaslappens an den Halsgefäßen

Nach Beendigung der Anastomosennähte und Öffnung der Bulldog-Klemmen zeigt eine rasche Färbung des Organs die erfolgreiche Implantation an.

Das Transplantat wurde nun in eine subkutane Halsloge eingelegt, wobei sorgfältig darauf geachtet werden muß, daß die Anastomosengefäße nicht torquiert werden. Der Hautverschluß erfolgt mit einer fortlaufenden Naht und Einlage eines Penrose-Drains.

2.9. Postoperative Überwachung

An den ersten beiden postoperativen Tagen wurden die Tiere in einer Wärmekammer, die eine besonders intensive Überwachung erlaubt, gehalten. Sie wurden dabei parenteral ernährt und erhielten je 250ml Laevulose 5% und 250ml Tutofusion (Elektrolytlösung). Eine Antibiotikaprophylaxe erfolgte entsprechend den im Tierstall am häufigsten auftretenden Keimen und deren Resistenzlage. Zur Anwendung kamen dabei Mezlocillin (Optocillin[®]) in einer Dosierung von 2 mal täglich 6gr. in einer Kurzinfusion über 30min, Fosfomycin (Fosfocin[®]) in einer Dosierung von 2 mal täglich 6gr. pro infusione, Cefoxitim (Mefoxitin[®]) in einer Dosierung von 1,05gr. alle 8 Stunden intravenös. Cefotaxim (Claforan[®]) in einer Dosierung von 2,0gr. alle 12 Stunden in einer Kurzinfusion.

Um die Fragestellungen der Experimente nicht zusätzlich zu beeinflussen, wurde sowohl auf eine Thromboseprophylaxe mit Heparin als auch auf eine Pankreatisprophylaxe mit Aprotinin verzichtet.

Ab dem 3. postoperativen Tag erhielten die Tiere handelsübliches Hundefutter, sowie Wasser ad libidum. Bei den vollständig pankreatektomierten Tieren mußte die exokrine Pankreasfunktion medikamentös ersetzt werden. Die Hunde erhielten daher Pankreatin 700mg (Pankreon forte®) zu den Fütterungen je nach individuellem Bedarf.

Zusätzlich wurde täglich die Vena saphena punktiert und Blut für folgende Bestimmungen abgenommen: Hb, Hkt, Leukozyten, Amylase, Lipase und Nüchternblutzucker. Am 4., 10. und 14. postoperativen Tag wurde ein intravenöser Glucosetoleranztest (IVGTT) durchgeführt, dabei wurde zusätzlich Insulin bestimmt (Beschreibung der laborchemischen Untersuchungen siehe unter 2.13.).

Es folgte ein täglicher Verbandswechsel und eine genaue Inspektion der Operationswunde. Dabei wurde besonders auf die Sekretion aus der Drainage am Hals geachtet und diese nach Menge (geschätzt in ml), Farbe (blutig, klar, trüb) eingeteilt und dokumentiert.

Die Operationsnähte wurden gereinigt und mit einem Polyvinylpyrrolidon-Jod Komplex (Betaisadonna-Salbe®) versorgt. Im Falle einer Nahtdehissenz wurden die Wundränder angefrischt und in die Wundhöhle Tabletten, bestehend aus 10mg Framycetinsulfat und 250 NF-Einheiten Trypsin (Leukasekegel®), eingebracht.

2.10. Überprüfungen der vollständigen Pankreatektomie

Die oben beschriebene, chirurgisch-technisch sehr schwierige, Entfernung des rechten Pankreaslappens birgt die Gefahr, daß

Restgewebe in situ verbleibt. Es ist daher notwendig die Vollständigkeit der Explantation zu objektivieren.

Wir führten deshalb am Ende der Versuchsreihe bei allen Tieren eine Explantation des Transplantates durch. Die Operation erfolgte in Ketanest^R Kurznarkose. Dabei wurde über dem durch die Haut testbaren Transplantat ein ca. 5cm langer Hautschnitt durchgeführt. Nach sorgfältiger Lösung des Organs vom umliegenden Granulationsgewebe wurden die Gefäßstücke an der Arteria carotis communis und der Vena jugularis externa aufgesucht und das Transplantat in toto abgesetzt. An den beiden postoperativen Tagen erfolgte die Messung des Nüchternblutzuckers sowie am 2. postoperativen Tag ein intravenöser Glucosetoleranztest. Es wurden nur solche Tiere in die Versuchsreihe aufgenommen, deren Werte streng pathologisch waren. Als Kriterien galten ein Nüchternblutzucker über 400mg% und IVGTT mit einem K-Wert unter 1,0.

2.11. Medikamentöse Beeinflussung der Transplantatpankreatitis und deren Folgen

2.11.1. Gangocclusion mit Ethibloc^R

Eines der größten Probleme der Pankreassegmenttransplantation stellt die Handhabung des exokrinen Pankreasgewebes dar. Sowohl die vom exokrinen Gewebe produzierten Enzyme, als auch die in den zentralen Anteilen des Parenchyms beginnende Pankreatitis stellen oftmals die pathogenetische Ursache für den Transplantatverlust dar (23,54). Die Enzyme Trypsin, Chymotrypsin, Elastase, Lipase, Phospholipase A, Kallikrein und Kinine bewirken

ausserhalb des Pankreasgangsystems Proteolyse, Fettgewebnekrosen, Hydrolyse und Vasodilatation. Die Pankreatitis führt zu Fistelbildung, Abszessen und Pseudozysten. Schon 1922 versuchten erstmals Banting und Best ein "Ausbrennen" einer Pankreatitis durch Ligatur des Ductus pancreaticus major zu beschleunigen (34,115). Dieses Verfahren ist jedoch sowohl wegen des Aufstaus des Pankreassekretes (Bildung von Pseudozysten), der Möglichkeit einer Insuffizienz der Ligatur, sowie des Übersehens eines Ductus pancreaticus accessorius mit vielerlei Komplikationen behaftet (111).

In unseren Experimenten führten wir deshalb eine Gangocclusion mit einer schnell härtenden alkoholischen Prolamin-Lösung (Ethibloc®) durch. Die Installation des Ethibloc® während der kalten Ischämie (siehe 2.6.2) erfolgt durch Kanülierung des Ductus pancreaticus im Resektionsquerschnitt (siehe Abb.9). Wir injizierten 0,1ml-0,5ml des Occlusionsmaterials je nach Größe des Organs. Versuche von Gebhardt und Stolte (34) zeigten, daß selbst ein "Überspritzen" des Organs nicht zu einer Pankreatitis führt. Die Injektion der mikrobiologisch indifferenten Aminosäurelösung führt zu einer vollständigen Ausfüllung des Pankreasgangsystems mit Zerstörung des Zylinderepithels. In der Folgezeit kommt es zu einer interstitiellen Fibrose, die zur Atrophie des exkretorischen Parenchyms führt. Die Langerhansschen Inseln bleiben bei diesen morphologischen Veränderungen funktionsfähig und licht-mikroskopisch intakt (8,34). Das Occlusionsmaterial wird nach ca. 11 Tagen leukozytär abgeräumt.

2.11.2. Antiödematöse Therapie mit Venalot®

Das am 3. und 4. postoperativen Tag auftretende Speichelödem des Transplantates führt über eine Erhöhung des intraparenchymatösen Druckes zu einer Erniedrigung des Blutflusses und dadurch zu einem erhöhten Thromboserisiko (94,95). Der Austritt der Pankreasenzyme erfolgt bei occludiertem Ductus pancreaticus über durchtrennte Lymphgefäße und durch eine erhöhte Zellpermeabilität, bedingt durch ischämische Schädigung und chirurgische Manipulation (2,3). Die im Speichelödem enthaltenen Enzyme stellen eine pathogenetische Ursache für die Autolyse des Transplantates und die erhöhte Infektionsrate unter Immunsuppression dar (7).

Es werden deshalb Wege gesucht, die Entstehung des Speichelödems zu beeinflussen.

Wir verwendeten in unseren Versuchen Benzo-Pyrone folgender Zusammensetzung:

- 1,5mg Coumarin
- 25mg Sodium-rutin sulphate
- (Venalot®, chemische Formel siehe Abb.19)

Die Wirkung dieser Substanz beruht auf einer Verringerung der Zellpermeabilität durch eine Reduzierung der Zellvakuolen und Verschließen der Zellverbindungen, einer Steigerung der Proteolyse von Makromolekülen und besonders einer Förderung der Makrophagentätigkeit zum Abbau von Proteinen (22).

Die Versuchstiere erhielten intraoperativ und bis zum 4. postoperativen Tag 1mg Coumarin je kg Körpergewicht täglich intravenös injiziert.

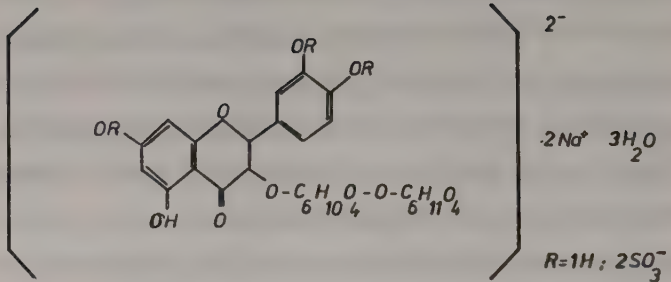
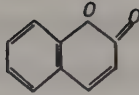


Abb 19: Chemische Formel von Venalot^R

Coumarin (oben)

Sodium-rutin-sulphate <SRS> (unten)

2.12. Messung der Durchblutung des Transplantates

Auf der Suche nach einer Methode, die eine quantitative Differenzierung der Organdurchblutung in Abhängigkeit vom chirurgisch-technischen Vorgehen (mit bzw. ohne AV-Shunt) erlaubt, entschieden wir uns für die Verwendung radioaktiv markierter Kunststoffpartikel.

Im Gegensatz zu früheren Methoden, bei denen nur der Blutfluß durch den Truncus coeliacus bzw. die Arteria lienalis (20) gemessen wurde, ist es mit der von uns nach der Beschreibung von Rudolph und Heymann (53) durchgeführten Messung möglich, die effektive Gewebsdurchblutung zu bestimmen.

2.12.1. Theoretische Grundlagen und methodische Voraussetzungen

Um die Durchblutung von Organen am physiologisch intaktem Kreislauf zu messen, bieten sich radioaktiv markierte Kunststoffpartikel an, deren rheologische Eigenschaften von denen der festen Blutbestandteile indifferent sind. Unter der Annahme der gleichmäßigen Verteilung der Kunststoffpartikel im Kreislauf erhält man eine proportionale Beziehung zwischen der im Organ gemessenen Radioaktivität (die Partikel verbleiben im Kapillarsystem der Organe) und der Organdurchblutung (17,50,88). Dies wird durch die Injektion der Partikel in den linken Ventrikel hinreichend erfüllt. Zur Anwendung kamen in unserer Versuchsreihe radioaktive Microspheres der 3 M-Company (Minnesota Mining and Manufacturing St. Paul, USA) mit einer Partikelgröße von 20 μm . Diese karbonisierten Kunststoffpartikel erfüllen folgende, für eine exakte Durchblutungsmessung, erforderliche Bedingungen (71,92)

- 1) geringe Rezirkulation (<1%)
- 2) biologische Indifferenz
- 3) keine Metabolisierung (d.h. chemisch und physikalisch stabil)
- 4) ausreichende Stabilität des radioaktiven Indikators über den Meßzeitraum

Nach der Referenzzeitvolumenmethode von Rudolph und Heymann gilt:

Bei konstantem Zeitvolumen (Q) und konstantem Referenzzeitvolumen (Q_R) ist der Quotient aus Q und Q_R gleich dem Quotienten der in den Volumina befindlichen Indikatormenge

$$\frac{Q}{Q_R} = \frac{I}{I_R}$$

Q = Zeitvolumen

Q_R = Referenzzeitvolumen

I = Indikatormenge im Zeitvolumen

I_R = Indikatormenge im Referenzzeitvolumen

Wenn die injizierte Indikatormenge, sowie das Referenzzeitvolumen und die darin befindliche Indikatormenge bekannt ist, erhält man Formeln zu Berechnung des Herzzeitvolumens (HZV) und der kapillaren Durchblutung

$$Q_{HZV} = \frac{I_{inj} \times Q_{ar}}{I_{ar}}$$

Q_{HZV} = Herzzeitvolumen

Q_{kap} = kapillare Durchblutung

$$Q_{\text{kap}} = \frac{I_{\text{kap}} \times Q_{\text{ar}}}{I_{\text{ar}}}$$

- I_{inj} = injizierte
Indikatormenge
 I_{ar} = Indikatormenge
in der arteriellen
Referenzprobe
 I_{kap} = Indikatormenge im
untersuchten Gewebe
 Q_{ar} = Zeitvolumen der
arteriellen Referenz
probe

Frühere Untersuchungen haben gezeigt (17), daß eine ausreichende Genauigkeit der Durchblutungsmessung nur dann erreicht werden kann, wenn in den entnommenen Gewebeproben mindestens 400 Partikel enthalten sind. Dies wurde durch die Injektion von 0,2gr. radioaktiver Microspheres (auf ein 10.000stel Gramm genau gewogen) erreicht.

2.12.2. Messung der Radioaktivität

Nach Beendigung der Experimente wurde aus verschiedenen Gewebeproben (siehe 2.12.3.) die Radioaktivität in einem Vielkanal-Gammaspektrometer der Fa. Packard bestimmt. Zur Anwendung kamen die Gammastrahler Chrom (^{51}Cr), Strontium (^{85}Sr) und Niobium (^{95}Nb) (Eigenschaften siehe Abb.20). Die Darstellung der Energiespektren der einzelnen Isotope (siehe Abb.21) am Bildschirm des Gammaspektrometers zeigt, daß es unterhalb der Hauptenergiebereiche aufgrund des Compton-Effektes zu einer erheblichen Streustrahlung kommt (92). Diese Streustrahlung

	Halbwertszeit in Tagen	Haupt-Energiebereich in MeV
^{51}Cr	27,8	0,320
^{85}Sr	65	0,514
^{95}Nb	35	0,766

Abb 20: Eigenschaften der zur Durchblutungsmessung verwendeten Gammastrahler
Chrom, Strontium und Niobium

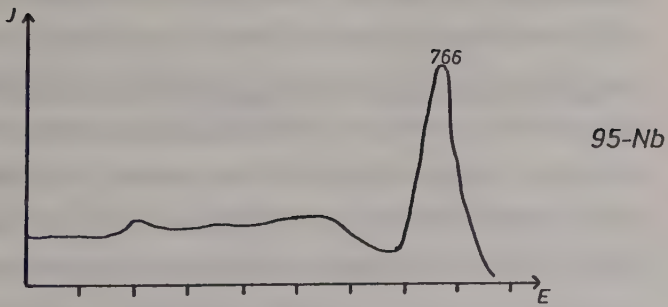
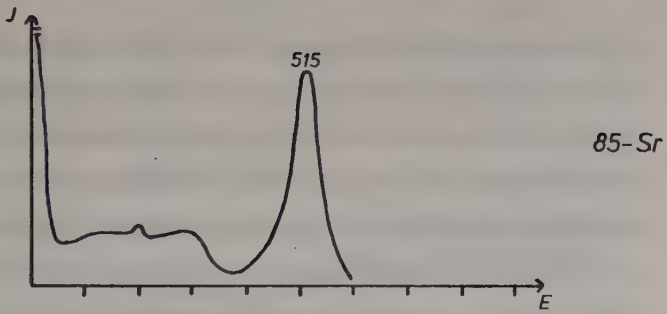
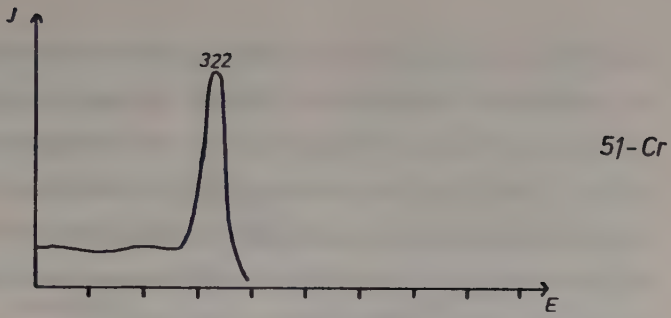


Abb 21: Energiespektren der Isotope Chrom, Strontium und Niobium

beeinflusst die vom Spektrometer gemessene Bruttoimpulsrate der im niedrigeren Energiebereich liegende Isotope (in unseren Experimenten ^{51}Cr und ^{85}Sr siehe Abb.21). Die Überlagerungen mußten deshalb bei jedem Meßvorgang durch Mitführen von Standards aller beteiligten Isotope erfaßt werden. Zusätzlich mußte bei allen Messungen die Hintergrundaktivität (bestimmt durch den Mittelwert aus 10 Leergefäßen) berücksichtigt werden.

2.12.3. Technische Durchführung der Durchblutungsmessung

Nach Beendigung der Implantation des Pankreassegmentes an die rechte Arteria carotis und Vena jugularis wurde in der gleichen Operationssitzung ein Linksherzverweilkatheter unter Bildwandlerkontrolle über die linke Arteria carotis eingeführt. In die linke Arteria femoralis wurde ebenfalls ein Katheter installiert, der an eine Zugschleife angeschlossen das Referenzzeitvolumen liefert (siehe Abb.22). Die Injektion der Microspheres erfolgte am Operationstag mit ^{51}Cr , am 3. postoperativen Tag mit ^{85}Sr und am 6. postoperativen Tag mit ^{95}Nb jeweils in Narkose. Es wurde eine Suspension von ca. 0,2gr. (auf 1/10.000gr. genau gewogen) in 10ml 0,9% Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Bis zur Injektion mußte diese Spritze, um eine homogene Verteilung der Microspheres sicherzustellen, sowie eine Adhäsion an der Innenwand zu vermeiden, kontinuierlich geschüttelt werden. Die Injektion erfolgte als Bolus über 20sec, anschließend wurde der Katheter zur Entfernung eventuell adhärenter Microspheres mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Die Spritze selbst wurde mehrmals mit 0,9% Kochsalz gespült und diese Spülflüssigkeit im Gammaspectrometer auf Radioaktivität untersucht. 5 Sekunden

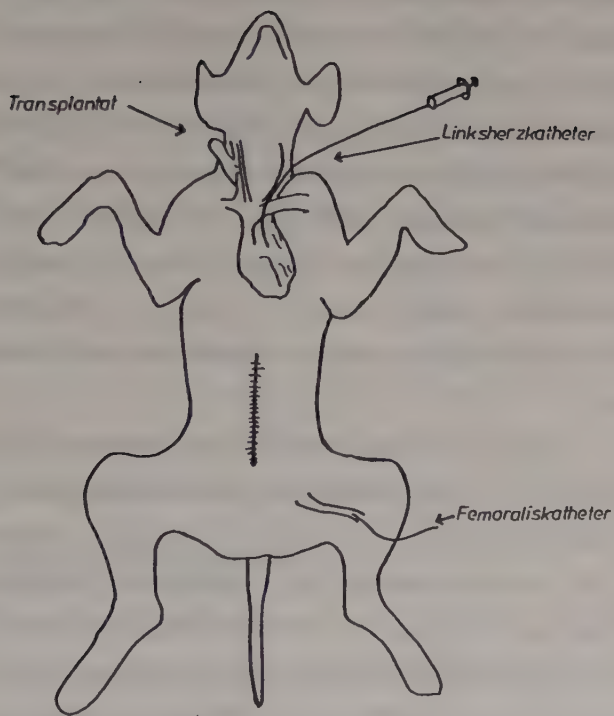


Abb 22: Versuchsanordnung zur Messung der Transplantatdurchblutung
mit radioaktiven Microspheres

nach Ende der Injektion wurde ein an der linken Arteria femoralis angeschlossene Zuggpumpe eingeschaltet. Mit ihrer Hilfe wurde eine bestimmte Menge Blut pro Zeiteinheit - das Referenzzeitvolumen - gewonnen, das Gewicht auf 1/10.000gr genau bestimmt und die darin enthaltene Radioaktivität gemessen. Der Linksherzverweilkatheter blieb während des gesamten Experimentes in situ. Er wurde an der Haut angenäht und jeden Tag mit einer Heparin-Kochsalzlösung gespült. Die Lage der Katheterspritze wurde vor jeder Injektion radiologisch kontrolliert. Da sich ein Verweilkatheter in der linken Arteria femoralis als unzweckmäßig erwies (Infektion, Entfernung des Katheters durch das Versuchstier) wurde vor jeder Messung ein neuer Katheter gelegt.

Am 7. postoperativen Tag wurden den Versuchstieren in Narkose Gewebeproben aus dem transplantierten Pankreassegment, der Halsmuskulatur, der Lunge, einer Niere und der Zunge entnommen. Die Tiere wurden anschließend eingeschläfert (intrakardiale Injektion von Nembutal®). Die entnommenen Gewebeproben wurden präpariert, d.h. sämtliches anhängendes Binde- und Fettgewebe wurde entfernt. Anschließend wurde sämtliches Gewebe in Plastikröhrchen verbracht, die entsprechend der Zählgeometrie des Gammaspectrometers auf eine Höhe von exakt 3cm gefüllt sein mußten. Es ergaben sich so bei jedem Versuch ca. 70 Plastikgefäße gefüllt mit den Isotopenstandards, der Spülflüssigkeit, der Referezprobe, den Gewebeproben und Leergefäßen, die im Vielkanal-Gammaspectrometer gemessen wurden.

2.12.4. Berechnung der Durchblutung

Mit Hilfe der Microspheres wurde die Durchblutung des Pankreastransplantates, der Nieren und das Herzzeitvolumen als wichtige Parameter erfaßt. Zur Kontrolle wurden die Werte für Lunge, Herzmuskulatur und Zunge mit berechnet (siehe Ergebnisse). Ausgewertet wurden nur Versuchstiere, deren Nierendurchblutung einen Wert von mindestens 4-5ml/gr Gewebe x min, sowie ein Herzzeitvolumen von 1,8-3,5ml/min erreichten.

Folgende Daten mußten als Grundlage für die in einem Computer-Programm erfolgte Auswertung gemessen werden:

- Gewicht der Microspheres im Standard [gr]
- Gewicht der injizierten Microspheres [gr]
- Zeitvolumen der Referenzspritze [$\frac{\text{ml}}{\text{gr} \times \text{min}}$]
- Nettoimpulsrate des Standards [cpm]
- Nettoimpulsrate des Referenzzeitvolumens [cpm]
- Nettoimpulsrate der Spülflüssigkeit [cpm]
- Nettoimpulsrate der Gewebeproben [cpm]
- Gewicht der Gewebeproben [gr]

Die Nettoimpulsrate ergibt sich aus der im Gammaskpektrometer gezählten Bruttoimpulsrate minus der in den Leergefäßen bestimmten Hintergrundaktivität minus der aus den technischen Daten der verwendeten Isotope sich ergebenden Überlagerungen (siehe Abb.23). Die Werte für die Überlagerungen sowie die Hintergrundaktivität mußte bei jedem Meßvorgang neu bestimmt und errechnet werden.

Isotop	^{51}Cr	^{85}Sr	^{95}Nb
Überlagerung in %	x(%) y(%)	z(%)	
Bruttocounts	(cpm)	(cpm)	(cpm)
Hintergrund- aktivität	$-B1_1$ (cpm)	$-B1_2$ (cpm)	$-B1_3$ (cpm)
% ^{95}Nb % ^{85}Sr	-y (cpm) -x (cpm)	-z (cpm)	
Nettocounts	Cr (cpm)	Sr (cpm)	Nb (cpm)

Abb 23: Berechnung der Nettoimpulsrate (Erläuterung siehe Text)

Aus den gewonnenen Meßwerten mußte zunächst die injizierte Aktivität ermittelt werden.

$$I_{\text{inj}} = \frac{I_{\text{stand}} \times g_{\text{injiz}}}{g_{\text{stand}}} - I_{\text{spül}}$$

I_{stand} = Indikatormenge im Standard

g_{stand} = Gewicht der Microspheres im Standard

g_{injiz} = Gewicht der injizierten Microspheres

$I_{\text{spül}}$ = Indikatormenge, die in der Spritze verblieben ist

Für das Herzzeitvolumen und die Gewebedurchblutung ergaben sich dann die unter 2.12.1. dargestellten Formeln.

$$Q_{\text{HZV}} = \frac{I_{\text{inj}} \times Q_{\text{Ref}}}{I_{\text{ref}}}$$

$$Q_{\text{kap}} = \frac{I_{\text{kap}} \times Q_{\text{ref}}}{I_{\text{ref}}}$$

Das Computerprogramm zur Errechnung der Durchblutungswerte wurde von Fr. I. Krumbach (Institut für Chirurgische Forschung, Leiter Prof. Brendel) in Anlehnung an die Arbeiten von Schosser und Lenz erstellt (71,91,92).

2.13. Funktionelle und morphologische Funktionsbeurteilung

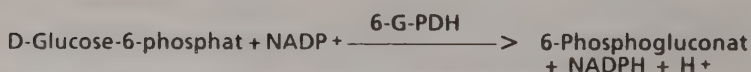
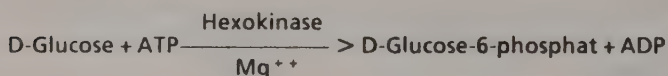
2.13.1. Blutzucker

Die täglich durchgeführten Blutglucoseuntersuchungen erfolgten mittels zwei verschiedener Methoden. Eine Sofortbestimmung wurde mit Dextrostix der Firma Ames durchgeführt. Dazu wird ein

Tropfen Blut auf einen Teststreifen gegeben und nach 1 min mit Aqua destilata gespült. Der Blutglucosewert wird dann an Hand der Färbung im Vergleich zu einer Skala oder mit einem Photometer bestimmt.

Zur Kontrolle wurde aus der gleichen Blutprobe der Blutzucker mit Hilfe der Hexokinase-Methode bestimmt.

Der Glucosewert läßt sich dabei mit einer gekoppelten enzymatischen Reaktion bestimmen. Dabei wird Glucose durch Hexokinase phosphoryliert und das dabei gebildete Glucose-6-phosphat in einer Indikatorreaktion durch Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase dehydriert. Hierbei wird NADPH gebildet, dessen Extinktion bei 365nm gemessen und die im Verlauf der Reaktion umgesetzte Glucosemenge aus den Meßwerten stöchiometrisch bestimmt.



Die entnommene Blutprobe wird in folgender Weise aufgearbeitet: Nach dem Zentrifugieren wird das Serum mit Perchlorsäure enteiweißt, 100µl des Überstandes werden dann mit 2ml Puffer (Phosphatpuffer 66mmol/l, Mg^{++} 3,77mmol/l, NADP 1,22mmol/l, ATP 1,22mmol/l) gemischt und die Extinktion E_1 bei 365nm (Schichtdicke 1cm, Temperatur 25°C) gemessen. Jetzt werden 20µl Reaktionslösung (Hexokinase 0,94U/ml, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase 1,7U/ml) hinzugegeben und nach 5min die Extinktion E_2 gemessen. $E(E_2 - E_1)$ wird nun mit 1184 multipliziert und man erhält die Konzentration der Glucose in mg%.

2.13.2. Glucosetoleranztest

Am 4., 10. und 14. postoperativen Tag wurde bei den Versuchstieren ein intravenöser Glucosetoleranztest durchgeführt. Dabei werden dem Tier 0,5gr/kg Körpergewicht Glucose in Form einer 20% Glucoselösung in 2-5min intravenös injiziert. Nach gleichmäßiger Verteilung im Kreislauf erfolgt eine Eliminationsphase, die nach folgender Gleichung verläuft:

$$c_t = c_0 \times e^{-kt}$$

c_t = Glucosekonzentration zur Zeit t

c_0 = auf den Zeitpunkt $t=0$ extrapolierte
Glucosekonzentration

e = Basis des natürlichen Logarithmus

k = Glucose-Assimilationskoeffizient

t = Zeit nach der Glucoseinjektion

Die ermittelten Glucosekonzentrationen (siehe Hexokinase Methode 2.13.1) werden nun in ein halb logarithmisches Koordinatensystem (Abszisse t in min, Ordinate Glucose in mg/100ml logarithmisch) übertragen. Aus dieser graphischen Darstellung wird nun der Glucose-Assimilationskoeffizient K_g errechnet. K_g ist ein Maß für die Glucoseaufnahme des Gewebes und entspricht der Steigung der Geraden im Koordinatensystem.

Berechnung: Am Schnittpunkt der Gerade mit der Ordinate läßt sich die Glucosekonzentration zum Zeitpunkt $t=0$ ablesen. Dieser Wert ergibt durch 2 dividiert $c_0/2$. Eine Parallele zur Abszisse durch $c_0/2$ ergibt mit der Geraden den Schnittpunkt A, senkrecht davon findet man auf der Abszisse die Halbwertszeit $t_{1/2}$. Aus den gefundenen Werten läßt sich K_g nach folgender Formel berechnen:

$$K_g = \frac{\ln 2}{t_{1/2}}$$

Nach Conard multipliziert man diesen Wert mit 100.

Die klinische Korrelation ergibt dann

K_g : 1,2 - 2,2 normale Glucosebelastung

K_g : 1,0 - 1,2 Grenzbereich

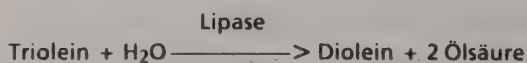
K_g : < 1,0 diabetische Stoffwechsellaage

K_g : > 2,2 erhöhte Kohlehydrattoleranz

2.13.3. Lipase-Bestimmung

Die Bestimmung der Lipase-Werte erfolgte mit Hilfe der Monotest^R Lipase Sets der Firma Boehringer Mannheim. Es handelt sich dabei um einen turbidimetrischen Test, der die Substratabnahme im UV-Bereich photometrisch mißt. Das Testprinzip beruht auf der Katalysation einer chemischen Reaktion durch Lipase. Im UV-Bereich wird die Abnahme der Trübung einer Triglyceridemulsion gemessen. Dem Testansatz wird Colipase, ein Pankreaslipaseaktivator, und Desoxycholat, ein Stoff, der die nicht aus dem Pankreas stammenden Lipase hemmt, zugesetzt.

Testreaktion:



Lipasereagenz: Triolein 0,30mmol/l

Trispuffer 26,0mmol/l

Natriumdesoxycholat 19,0mmol/l

CaCl₂ 0,1mmol/l

Colipase 3,0mg/l

Standardreagenz: Lipase mit einer Aktivität von 190U/l bei 25°C

Der Testansatz der einzelnen Proben wird in 2,5ml destilliertem Wasser aufgelöst und auf 25°C temperiert. 0,1ml Probe werden mit 2,5ml Lösungsreagenz vermischt und in 4min inkubiert. Anschließend wird bei einer Wellenlänge von 365nmHG (Schichtdicke 1cm, Temperatur 25°C) die Extinktion E_1 gegen Luft gemessen. Nach weiteren 5min wird die Extinktion E_2 abgelesen. E ergibt sich zu $\Delta E_2 - E_1$. Der Berechnungsfaktor F ergibt sich aus dem Quotienten des Standards und E_{standard} . Die Aktivität der Probe berechnet sich nach

$$U/l = F \times \Delta E_{\text{Probe}}$$

Bei Aktivitäten über 700U/l wurde die Probe 1 zu 1 mit NaCl verdünnt.

2.13.4.α-Amylase Bestimmung

Die Bestimmung der α-Amylase erfolgte mittels Amylase Monotest^R der Firma Boehringer Mannheim. In diesem Reaktionsansatz ist p-Nitrophenol-malto heptaosid das definierte Substrat. Es wird durch α-Amylase und α-Glucosidase, die im Testansatz enthalten ist, zu p-Nitrophenol hydrolysiert. P-Nitrophenol wird bei 405nm gemessen und ist der Aktivität der α-Amylase proportional. Zu jedem Reaktionsansatz werden bei 25°C 100µl Probenmaterial gegeben und 4min inkubiert. Danach wird bei 405nmHg die Extinktionszunahme pro Minute über 3 Minuten gemessen. Es wird ein Mittelwert gebildet und mit dem Faktor 7000 multipliziert um die Aktivität zu erhalten. Bei Aktivitäten über 1050U/l wird die Probe 1 zu 10 mit NaCl verdünnt.

2.13.5. Insulinbestimmung

Für den Insulin RIA wird normales Plasma verwendet. Als Reagenzien benötigt man:

- NaFAM enthält

$\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2 \text{ H}_2\text{O}$	5,77g
$\text{NaH}_2\text{PO}_4, \text{H}_2\text{O}$	1,05g
Humanalbumin	1,00g
Sodium merthiolat	0,24g
NaCl	6g
Aprotinin	40mg

 mit Aqua dest. auf 1000ml verdünnt

- Hunde Insulin der Firma Novo Research Institute
Lot no H7547

Bioverfügbarkeit 22,3 iU/mg

Nitrogengehalt 13,59%

- Anti Insulin der Firma Welcome, welches aus einer Mischung von Meerschweinchen-anti-serum und Kaninchen-anti-Meerschweinchen-globulinserum besteht und in folgender

Lösung gepuffert ist:

Natrium Phosphat	0,04 M
EDTA	0,02 M
Natrium-azetat	0,1%
Rinderserum Albumin	0,5%
pH	7,4
als Puffer diente NaFAM	(6%).

Um eine Standardkurve zu erstellen, werden verschiedene Verdünnungsstufen des Insulin-Standards (bzw. der zu bestimmenden Proben) hergestellt, und je 100 μ l davon mit je 100 μ l des Antiserums vermischt und 6 Stunden inkubiert. Dann werden zu jeder Probe 100 μ l 125 J-Rinderinsulin gegeben, vermischt und für weitere 18 Stunden inkubiert. Die Proben werden nun mit 1ml Puffer versetzt und für 20min bei 2000G zentrifugiert. Nun wird vom Überstand die Radioaktivität bestimmt und daraus die Aktivität der einzelnen Proben errechnet. (Die Bestimmung der Insulinproben erfolgte im Labor Prof. Dr. R. Landgraf, Medizinische Klinik Innenstadt, Universität München).

2.13.6. Histologische Untersuchung

Nach der Installation des Occlusionsmaterials (Ethibloc®) in den Ductus pancreaticus wurden während der kalten Ischämiezeit Gewebeproben zur histologischen Untersuchung entnommen. Am Ende der Experimente wurde das gesamte Transplantat entnommen und in histologischen Schritten aufgearbeitet. Die Proben wurden in Formalin fixiert und mit Hämatoxylin-Eosin Lösung gefärbt. Die Untersuchung des Materials erfolgte nach folgenden Kriterien:

- lichtmikroskopisch regelrechte Form der Langerhansschen Inseln
- gleichmäßige Lobulierung des Pankreasparenchyms
- Auftreten von Nekrosen
- Auftreten des Occlusionsmaterials in, wie auch außerhalb des Gangsystems
- Atrophie oder Degeneration der Azini
- intra- bzw. interlobuläre Fibrose

- Entzündungszeichen

(Die Befundung erfolgte durch Dr. H. Arnholdt, Pathologisches Institut der Universität München, Leiter Prof. Dr. M. Eder)

2.14. Allogene Transplantation

2.14.1. Versuchstiere

Für die allogenen Versuchsreihen wurden wegen einer besseren Transplantatverträglichkeit ingezüchtete Beagles beiderlei Geschlechts verwendet. Das Gewicht der Tiere lag zwischen 10 und 15kg, das Alter zwischen 1 und 2 Jahren.

2.14.2. DLA-Typisierung

Zu Beginn der Versuchsserien wurde einer großen Anzahl von Versuchstieren je 15ml peripheres Venenblut abgenommen und in einem Gefäß mit Glaskügelchen defibriniert. Die Untersuchung des Blutes auf DLA-A,B Antigene und die Durchführung einer mixed leucocyte culture (MLC) erfolgte durch Hr. Dr. Scholz (Labor für Immungenetik Kinderpoliklinik der Universität München, Leiter Prof. Albert) nach dem von Terasaki und McClelland beschriebenen Verfahren (108).

Die Tiere wurden mittels in Kurznarkose (Ketanest®) ins Ohr angebrachter Nummer markiert, und entsprechend dem Laborergebnis paarweise in den Versuchsreihen verwendet. Zur kreuzweisen Transplantation kamen nur histokompatible und MLC-negative Tiere.

2.14.3. Immunsuppression

Zur Unterdrückung der Abstoßungsreaktion des Empfängertieres verwendeten wir in allen Versuchen Cyclosporin A, anstelle einer Kombination aus Azathioprin und Cortison. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, daß CyA als Immunsuppressivum zu einer Verbesserung der Transplantatüberlebenszeit führt (31,76). Darüberhinaus ergaben Versuche, daß es gegenüber der bisherigen Immunsuppressionstherapie unter CyA-Therapie zu einer besseren Glucosetoleranz und einer physiologischeren Insulinsekretion bei Provokationstests kommt (109).

Unsere Versuchstiere erhielten bis zum 5. postoperativen Tag 20mg CyA/kg Körpergewicht intravenös, zwischen dem 5. und 7. postoperativen Tag 20mg CyA/kg Körpergewicht per os. Nach 7 Tagen erfolgte eine Reduktion auf 15mg CyA/kg Körpergewicht per os, nach 14 Tagen auf 13mg CyA/kg Körpergewicht per os.

Auch im Falle einer Abstoßungsreaktion wurde keine zusätzliche Medikation mit Cortison oder Dosiserhöhung von CyA durchgeführt. Eine bei Nierentransplantation unter CyA-Therapie aufgetretene intersitielle Fibrose (80) veranlaßte uns den Einfluß von CyA auf die Pankreasfibrose nach Prolamin-Occlusion zu untersuchen (siehe unter 3.5.).

2.15. Feinnadelaspirationszytologie

Ein weiteres großes Problem der bisher durchgeführten klinischen Pankreastransplantationen stellt die rechtzeitige Erkennung einer Abstoßungskrise dar. Im Falle einer kombinierten Nieren- und

Pankreastransplantation (über 90% werden synchron transplantiert) besteht die Möglichkeit, die für die Abstoßungstherapie gültigen Kriterien der Nierentransplantation anzuwenden (Klinik, Labor, Histologie, Sonographie, Aspirationszytologie, Nuklearmedizin). Bei der Pankreastransplantation allein besteht bisher nur die Möglichkeit eine beginnende Hyperglykämie, eine verminderte Insulinreserve im intravenösen Glucosetoleranztest, oder eventuell einen Amylaseanstieg als Kriterium für eine Abstoßungskrise zu werten (31). Diese Kriterien sind jedoch sehr unzuverlässig, da ihr Auftreten für eine optimale Therapie der Krise entweder zu spät (Hyperglykämie), zu unsicher (Amylaseanstieg) oder zu umständlich (IVGTT) auszuwerten sind.

Wir haben deshalb versucht, die in der Nierentransplantation sehr erfolgreiche Feinnadelbiopsie auf die experimentelle Pankreastransplantation anzuwenden (49,60).

2.15.1. Technische Durchführung

Vom Operationstag an führten wir eine tägliche Punktion des Transplantates durch. Die Punktionsnadel wurde hierzu, ohne Narkose der Versuchstiere, perkutan nach gründlicher Hautdesinfektion in das Organ eingebracht. Zur Anwendung kamen dabei Spinalnadeln mit Mandrin (äußerer Durchmesser 0,6mm). Der Mandrin hat neben einer Stabilisation der sehr dünnen Punktionsnadel die Aufgabe, eine vorzeitige Aspiration von Hautzellen und Granulationsgewebe zu verhindern. Er wird erst nach intraparenchymatöser Lage im Transplantat entfernt.

Nach Entfernen des Mandrins darf kein Blut erscheinen, um zu gewährleisten, daß die Nadelspitze nicht in der Arteria oder Vena

lienalis liegt. Zur Zellaspiration wird auf die Punktionsnadel eine mit 4ml Hank'scher Lösung und Heparin (50 IU/ml) gefüllte Spritze aufgesetzt. Unter leichtem Zug am Spritzenkolben wird nun ein Vakuum erzeugt. Wenn hierbei kein Blut aspiriert wird, bewegt man die Nadel in Punktionsrichtung ca. 5mm hin und her um einen großen Bereich möglicher Abstoßungsherde zu erreichen.

Sobald Aspirationsmaterial in der Spitze erscheint, wird die Nadel zügig zurückgezogen. Jetzt muß sofort die Nadel gespült werden, da sich der größte Teil der aspirierten Zellen im Nadellumen befindet.

Zusätzlich wird bei jeder Feinnadelpunktion peripher Venenblut abgenommen, heparinisiert und mit Hank'scher Lösung 1:500 verdünnt. Das gewonnene Material wird anschließend zentrifugiert und der Überstand wird verworfen. Die am Boden sedimentierten Zellen werden mit einer Cytozentrifuge gleichmäßig auf mehrere Objektträger aufgebracht. Anschließend werden die Träger luftgetrocknet und das Aspirat mit May-Grünwald-Giemsa Lösung gefärbt.

Die Auswertung erfolgt unter dem Lichtmikroskop.

2.15.2. Bewertungskriterien des gewonnenen Aspirats

Grundsätzlich wurde nur unblutig gewonnenes Aspirationsmaterial für unsere Untersuchungen verwendet. Die für die Nieren-Feinnadelbiopsie geforderten 10-30% Parenchymzellen (46) im Aspirat für ein optimales Biopsiematerial, konnten für unsere Experimente, da noch keine Erfahrung für Feinnadelbiopsie bei Pankreastreansplantation vorliegt, nicht übernommen werden.

Um die tatsächlich am Organ stattfindende Abstoßungsreaktion zu quantifizieren, wird die Anzahl der weißen Blutkörperchen im Transplantat mit der Anzahl der weißen Blutkörperchen im peripheren Blut verglichen. Man gewinnt dabei nach folgendem Schema das sogenannte "korrigierte Inkrement".

Es wird sowohl vom Aspirat als auch vom Venenblut ein Differentialblutbild der Leukozyten erstellt und die einzelnen Werte werden voneinander subtrahiert. Da die klinische Erfahrung gezeigt hat, daß die Bedeutung der verschiedenen Zellen für die Beurteilung einer Abstoßungskrise nicht gleich ist, werden die im Aspirat vorhandenen Zellen mit einem Korrekturfaktor multipliziert (47). Dieser beträgt für Lymphoblasten, Plasmablasten und Makrophagen 1, für Lymphozyten 0,1 und für Monozyten 0,2. Die Zuordnung der Zellen zu den verschiedenen Zelltypen erfolgt lichtmikroskopisch nach den üblichen hämatologischen und cytologischen Kriterien.

Man unterscheidet dabei folgende Zellen:

- | | |
|-------------------------------|--|
| a) große Lymphozyten | - Durchmesser 12-16µm |
| | - zentral gelegener Kern |
| | - basophiles Plasma mit azurophilen Granula |
| b) kleine Lymphozyten | - Durchmesser 6-9µm |
| | - runder, leicht ovaler, dunkelvioletter Kern |
| | - wenig, ungefärbtes Plasma |
| c) transformierte Lymphozyten | - Durchmesser 20-30µm |
| | - großer, runder Kern mit feinem netzartigen Chromatin |
| | - basophiles Plasma |

- d) Lymphoblasten
 - Durchmesser 15-25µm
 - runder, leicht rosafarbener Kern mit 1-2 blauen oder farblosen Nucleoli
 - basophiles Plasma
- e) große granulierte Lymphozyten (LGL)
 - feine azurophile Granula im Zellplasma
- f) Plasmablasten
 - Durchmesser größer als 25µm
 - exzentrisch gelegener Kern mit ungefärbten Nucleoli
 - dunkelblaues Plasma
 - heller, perinukleärer Saum

Bei meisten der im Transplantat bei einer Abstoßungskrise gefundenen Lymphozyten werden der T-Zell-Linie zugeordnet. Die transformierten Lymphozyten rechnet man der B-Zell-Linie zu, die großen granulierten Lymphozyten werden zu den Killerzellen gezählt (46). Abgestoßene Organe werden oft von Monocyten infiltriert. Man unterscheidet dabei:

- a) kleine Monocyten
 - Durchmesser 20-30µm
 - runder oder ovaler Kern
 - dunkelblaues Plasma mit azurophilen Granula
- b) große Monocyten
 - Durchmesser 30-40µm
 - großer, nierenförmiger Kern
 - grau-blaues Plasma
- c) Macrophagen
 - Durchmesser bis zu 60µm
 - kleiner runder Zellkern am Zellrand
 - vakuolisiertes Plasma

Wenn die Anzahl der Blasten größer ist als die der Macrophagen spricht man von einer beginnenden Abstoßung, im umgekehrten Fall von einer fortgeschrittenen Abstoßung (46).

Bei der Auswertung von Feinnadelbiopsien bei der Nierentransplantation werden noch zusätzlich morphologische Veränderungen der Endothelzellen, Glomeruluszellen und Tubuluszellen berücksichtigt.

2.16. Versuchsreihen

Basierend auf die oben beschriebenen Operationsverfahren, Messungen und Untersuchungen führten wir folgende Versuchsreihen durch:

2.16.1. Einfluß der anatomischen Variationen der Arteria pancreatica

Über alle Experimente und damit an über 100 durchgeführten Transplantationen untersuchten wir den Einfluß der Variationen der Arteria pancreatica auf die chirurgische Technik der Pankreassegmenttransplantation auf die Verwendung des Organs zur allogenen oder autologen Transplantation. Darüberhinaus untersuchten wir inwieweit Gefäßvariationen zu Fehlversuchen und Organverlusten führen.

2.16.2. Einfluß eines distalen AV-Shuntes auf die Thromboserate der A.lienalis, quantitative Messung der Durchblutung mit radioaktiv markierten Microspheres

• 20 Hunde wurden in 2 Gruppen eingeteilt

Gruppe I : An 10 Hunden legten wir distal des Pankreas-segmentes einen ca. 2-3mm messenden AV-Shunt an

Gruppe II : 10 Hunde wurden ohne AV-Shunt autolog transplantiert.

Bei allen Versuchen erfolgte eine Messung der Durchblutung mit radioaktiven Microspheres (Chrom, Strontium, Niobium).

2.16.3. Einfluß von Benzo-Pyronen (Venalot®) auf das postoperative Speichelödem

10 Hunde verschiedener Rasse und beiderlei Geschlechts wurden in 2 Gruppen eingeteilt

Gruppe I: 5 Hunde wurden ohne AV-Shunt autolog transplantiert, das Transplantat wurde am 10. postoperativen Tag entfernt

Gruppe II: Hunde wurden in gleicher Weise operiert, erhielten jedoch intra und postoperativ bis zum 4. Tag 1mg Venalot®/kg Körpergewicht intravenös.

Zusätzlich wurde bei beiden Gruppen eine Durchblutungsmessung mit radioaktiven Microspheres durchgeführt.

2.16.4. Einfluß von Cyclosporin A auf die Pankreasfibrose nach Gangocclusion mit einer Prolaminlösung (Ethibloc®)

15 histokompatible und MLC-negative Beagles sowie ein Schäferhund wurden in 4 Gruppen eingeteilt

- Gruppe I : 5 Beagles wurden autolog ohne Immunsuppression transplantiert (Kontrollgruppe)
- Gruppe II : 5 Beagles wurden autolog mit Immunsuppression durch CyA transplantiert
- Gruppe III : 5 Beagles wurden allogren mit Immunsuppression durch CyA transplantiert
- Gruppe IV : 1 Schäferhund wurde autolog transplantiert und über 12 Monate beobachtet

2.16.5. Erkennung einer Transplantatabstoßung mit Hilfe der Feinnadelaspirationszytologie

20 histokompatible und MLC-negative Beagles wurden in 3 Gruppen eingeteilt

- Gruppe I : 10 Beagles erhielten nach allogener Transplantation täglich CyA
- Gruppe II : 5 Beagles erhielten nach allogener Transplantation täglich CyA, nach 3 Wochen erfolgte für 2 Tage keine immunsuppressive Therapie
- Gruppe III : 5 Beagles erhielten nach allogener Transplantation keine Immunsuppression

III Ergebnisse

3.1. Durchführbarkeit der Experimente und dabei aufgetretene Komplikationen

Bedingt durch das sehr schwierige Operationsverfahren, die langen Narkosezeiten (Dauer der einzelnen Operationen zwischen 3 und 5 Stunden), die exokrine Insuffizienz nach totaler Pankreatektomie und die immunsuppressive Therapie kam es zu zahlreichen Komplikationen, die zum Teil nur einen Abbruch des Experiments ohne vitale Beeinträchtigung des Versuchstiers, zum Teil aber auch zum Exitus der Tiere führten.

3.1.1. Komplikationen, die zum Abbruch der Experimente führten

Besonders in den ersten Experimenten kam es in zahlreichen Fällen zu keiner suffizienten Perfusion des linken Pankreaslappens. Die chirurgischen Manipulationen bei der Freilegung des linken Pankreaslappens, sowie die Anfangs oft zu spät erkannten anatomischen Variationen (siehe 3.2.) führten zu einer nur teilweisen Perfusion des Organs. In einigen Fällen kam es offenbar durch einen Gefäßspasmus im Pankreas zu keiner sofortigen Perfusion, so daß diese Organe wegen der ischämischen Schädigung nicht für die Transplantation verwendet werden konnten.

Trotz guter Perfusion und ausreichend weiter Anastomosen an der Arteria carotis und der Vena jugularis kam es in 7 Fällen nach Eröffnung der Anastomose zu keiner ausreichenden Durchblutung des Transplantates. In 3 Fällen konnte eine Thrombose in der

Arteria lienalis nachgewiesen werden, die übrigen 4 Fälle sind vermutlich auf Gefäßspasmen zurückzuführen.

In 2 Fällen kam es durch eine mit zu hohem Druck durchgeführte Installation des Occlusionsmittels Ethibloc[®] zu einer deutlichen "Überspritzung" des Organs mit Austritt der Prolaminlösung aus dem Parenchym. Obwohl von mehreren Autoren (8,111,115) beschrieben wurde, daß ein "Überspritzen" des Pankreas mit Prolaminlösung keinen negativen Einfluß auf die endokrine Funktion hat, entschlossen wir uns in beiden Fällen keine Transplantation durchzuführen.

3.1.2. Komplikationen, die zum vorzeitigen Tod der Versuchstiere führten

Ganz besonders der Verlust der exokrinen Pankreasfunktion nach totaler Pankreatektomie, sowie die immunsuppressive Therapie mit CyA beeinflussten die Überlebenszeiten der Versuchstiere. Wie auch von anderen Gruppen (34,78) beschrieben, kam es bei unseren Versuchstieren zu einer Maldigestion und erheblichen Kachexie. Die Substitution von Pankreasfermenten (Pankreon forte[®]) konnte bei einigen Tieren einen Kachexie bedingten Exitus nicht verhindern (siehe Abb.24). Einige Versuchstiere entwickelten unter der immunsuppressiven Therapie eine bakterielle Sepsis, die sich trotz hoher Dosen Antibiotika nicht beherrschen ließ und kamen so ad Exitum.

In 7 Fällen führten Narkosekomplikationen zum vorzeitigen Tod der Versuchstiere. 3 mal war die Ursache ein defekter Trachealtubus, dessen Block-Ballon während Manipulationen am Hals des Tieres zur Implantation, des Tubuslumen verschloß und die Tiere trotz sofortiger Gegenmaßnahmen erstickten. In 4 Fällen

Anzahl	Ursache
1	Ileus
3	defekter Trachealtubus
4	Narkosezwischenfall
14	postoperative Kachexie
6	Sepsis
2	nekrotisierende Pankreatitis
1	intraabdominale Blutung

Abb 24: Todesursachen der vor Ende der Experimente verstorbenen Versuchstiere

erwachten die Tiere trotz Medikation mit Levallorphan (Lorfan®) postoperativ nicht aus der Narkose. Die Ursachen blieben leider ungeklärt.

3.2. Die anatomischen Variationen der Arteria pancreatica

An 50 Versuchstieren haben wir den Einfluß der anatomischen Variationen der Arteria pancreatica auf die Operationstechnik und die Verwendung des linken Pankreaslappens zur allogenen oder autologen Transplantation dokumentiert und statistisch ausgewertet. Bei 31 Tieren führten wir eine autologe, bei 19 Tieren eine allogene Transplantation durch.

Die Operation erfolgte jeweils in der unter 2.6. beschriebenen Weise. Es wurde besonders auf eine exakte Darstellung der Gefäße des oberen Bauchraumes geachtet. Ligaturen und Durchtrennungen von Gefäßen wurden erst vorgenommen, wenn vorher durch manuelle Kompression der Gefäße eine Versorgung des linken Pankreaslappens sicher ausgeschlossen werden konnte. Es fanden sich dabei die in Abb.25 dargestellten Gefäßvariationen. Die Versorgung erfolgt bei TypA durch kleine Äste aus der Arteria lienalis, beim TypB entsprang eine eigene Arteria pancreatica aus der Arteria lienalis. Der TypC zeigte eine Versorgung durch ein kleines Gefäß direkt aus der Arteria mesenterica superior, der Arteria gastroduodenalis oder der Aorta. TypD wird durch eine kleine Arteria pancreatica aus der Arteria gastrica sinistra versorgt. Eine Versorgung durch intraparenchymatöse Gefäße aus dem rechten Pankreaslappen zeigt TypE (siehe Abb.26).

Die vielfältigen anatomischen Variationen (in unseren Untersuchungen entsprachen nur 46% der Gefäßversorgungen

dem erwarteten TypA, 54% waren Variationen der Typen B-E) beeinflussten entscheidend die Explantationstechnik, die Perfusion, sowie die Verwendung des Organs zur autologen oder allogenen Transplantation. Für die in unseren Experimenten durchgeführte segmentale Pankreastreansplantation (autolog und allogene), kamen nur die Typen A,B oder D in Frage. Wobei bei TypD sorgfältig darauf geachtet werden mußte, daß die Arteria gastrica sinistra erst nach dem Abgang der Arteria pancreatica propria und nicht wie üblich nahe dem Truncus coeliacus ligiert wurde. Der Versorgungstyp C kommt aus folgenden Gründen nur für eine allogene Transplantation mit Verlust des Spendertieres in Frage. Erstens ist eine isolierte Perfusion des sehr kleinen Gefäßes wegen auftretender Gefäßspasmen nicht möglich, zweitens ist eine Anastomosierung nur mit Hilfe mikrochirurgischer Techniken möglich und beinhaltet die Gefahr einer raschen Thrombosierung, drittens kann nur bei allogener Transplantation mit Verlust des Spendertieres (also keine kreuzweise Transplantation möglich) eine Perfusion über die Aorta durchgeführt werden. Bei TypE ist eine Transplantation sowohl autolog als auch allogene aus anatomischen Gründen nicht möglich.

Versorgungstyp	Anzahl der Fälle	%
Typ A Äste aus der A.lienalis	23	46
Typ B solitäre A.pancreatica aus A.lienalis	17	34
Typ C Versorgung aus der A.mesenterica superior o. A.gastroduodenalis o. Aorta	7	14
Typ D Versorgung aus der A.gastrica sinistra	2	4
Typ E Versorgung aus dem rechten Pankreas- lappen	1	2
Summe	50	100

Abb 25: Gefäßvariationen des linken Pankreassegmentes beim Hund

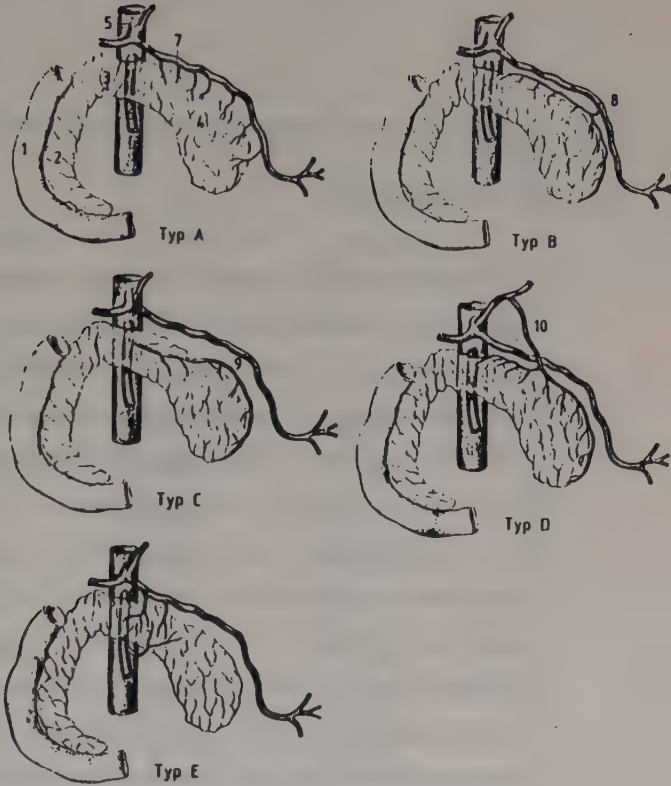


Abb 26: Variationen der arteriellen Gefäßversorgung des linken Pankreas-
lappen beim Hund.

- 1) Duodenum
- 2) rechter Pankreaslappen
- 3) Mittelstück
- 4) linker Pankreaslappen
- 5) Truncus coeliacus
- 6) A.mesenterica superior
- 7) A.lienalis
- 8) A.pancreatica propria aus der A.lienalis
- 9) A.pancreatica propria aus der A.mesenterica superior
- 10) A.pancreatica propria aus der A.gastrica sinistra

3.3. Quantitative Durchblutungsmessung mit und ohne distalen AV-Shunt

3.3.1. Mit distalen Av-Shunt

Bei 10 Versuchstieren führten wir eine segmentale autologe Pankreastreansplantation durch. Dabei wurde distal des Segmentes in der unter 2.8.1. beschriebenen Art und Weise ein 2-3mm großer AV-Shunt angelegt. Die Durchblutungsmessung mit Hilfe radioaktiv markierter Microspheres erfolgte unmittelbar postoperativ, am 3. postoperativen Tag und am 6. postoperativen Tag in der unter 2.12.3. beschriebenen Form. Die Berechnung erfolgte mit Hilfe eines Computerprogrammes wie unter 2.12.4. beschrieben. Es zeigte sich, daß die Durchblutung des Transplantates am 3. postoperativen Tag, dem Zeitpunkt des stärksten postoperativen Speichelödems deutlich absank (siehe Abb.27). Am 6. postoperativen Tag trat eine leichte Verbesserung der Durchblutung auf, es wurden jedoch in keinem Fall die postoperativen Ausgangswerte erreicht.

3.3.2. Ohne distalen AV-Shunt

Bei weiteren 10 Versuchstieren führten wir die Durchblutungsmessung ohne Anlage eines distalen AV-Shunts durch. Die Ausgangsdurchblutung (siehe Abb.28) unmittelbar postoperativ zeigte erwartungsgemäß keinen Unterschied zu den mit AV-Shunt operierten Tieren. Am dritten postoperativen Tag nahm die Durchblutung aufgrund der Kompression der Kapillaren durch das Speichelödem ebenfalls, jedoch in geringem Ausmaße ab. Am 6.

Hund	OpTag (Chrom)	3. Tag (Strontium)	6. Tag (Niobium)
1	0,05	-*	-*
2	0,045	0,005	0,001
3	0,045	0,005	0,001
4	0,05	0,015	0,025
5	0,08	0,015	0,035
6	0,05	0,01	0,020
7	0,045	-*	-*
8	0,05	0,01	0,02
9	0,02	0,005	0,005
10	0,06	0,015	0,035
$\bar{x} = SD$	$0,05 \pm 0,03$	$0,01 \pm 0,005$	$0,02 \pm 0,015$

* Thrombose der Vena lienalis- Nekrose des Transplantates

Abb 27: Durchblutungswerte mit distalen AV-Shunt in $\frac{ml}{g \text{ Gewebe min}}$

Hund	OpTag (Chrom)	3. Tag (Strontium)	6. Tag (Niobium)
1	0,050	0,025	0,045
2	0,055	-*	-*
3	0,060	0,020	0,040
4	0,050	0,020	0,035
5	0,030	-*	-*
6	0,080	0,035	0,050
7	0,020	0,010	0,025
8	0,045	0,015	0,020
9	0,050	0,020	0,035
10	0,045	0,015	0,030
$\bar{x} \pm SD$ 0,05 $\pm$ 0,03		0,02 $\pm$ 0,015	0,035 $\pm$ 0,015

* Thrombose der V. lienalis - Nekrose des Transplantates

Abb 28: Durchblutungswerte ohne distalen AV-Shunt in $\frac{ml}{g \text{ Gewebe min}}$

postoperativen Tag erfolgte ein Anstieg der Durchblutung, die Ausgangswerte wurden jedoch nicht erreicht.

3.3.3. Vergleich der beiden Operationsmethoden

Die Anlage eines distalen AV-Shunts brachte in unseren Untersuchungen keine Verbesserung der postoperativen Transplantatdurchblutung (siehe Abb.27,28,29). Es waren im Gegenteil bei den ohne AV-Shunt operierten Tieren geringfügig bessere Durchblutungswerte gemessen worden. Ein Vergleich der Gewichtszunahme der Organe zeigte ebenfalls keinen Unterschied zwischen beiden Gruppen (siehe Abb.30). Die Organgewichte stiegen in beiden Gruppen von 25-40gr vor Implantation auf 50-130gr nach Explantation am 7. postoperativen Tag. Die Gewichtszunahme betrug in beiden Versuchsserien somit zwischen 100 und 150%. Eine histologische Untersuchung der am 7. postoperativen Tag entnommenen Transplantate zeigte keine faßbaren Unterschiede in Abhängigkeit von der Operationsmethode, sondern lediglich die nach Gangocclusion mit einer Prolaminlösung bekannten Veränderungen. Es fanden sich ausgeprägte Mesenchymaktivierungen mit Fibroblastenproliferation, teilweise nekrotisches Epithel, sowie rarifizierte und atrophische Acini.

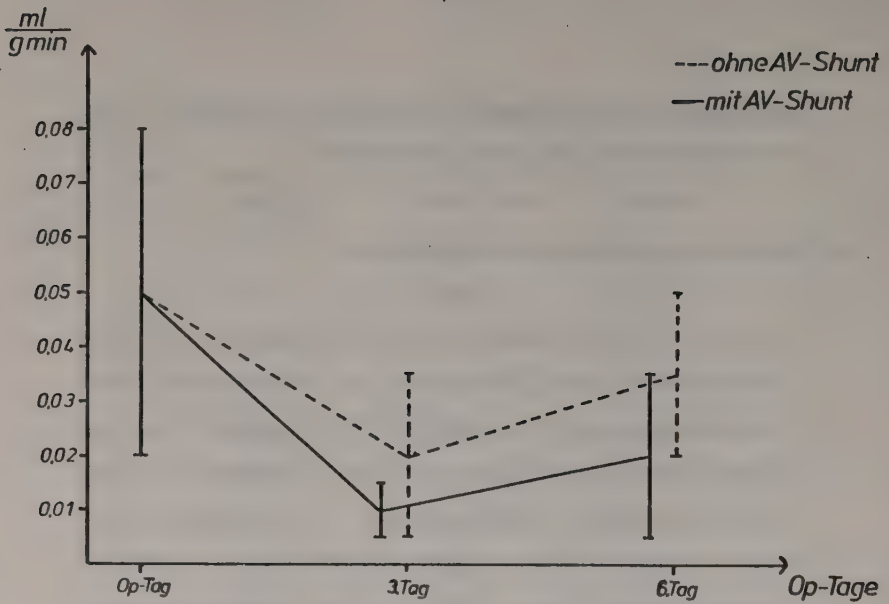


Abb 29: Durchblutungswerte der segmentalen Pankreastreansplantate
(Mittelwert $\pm$ Standardabweichung)

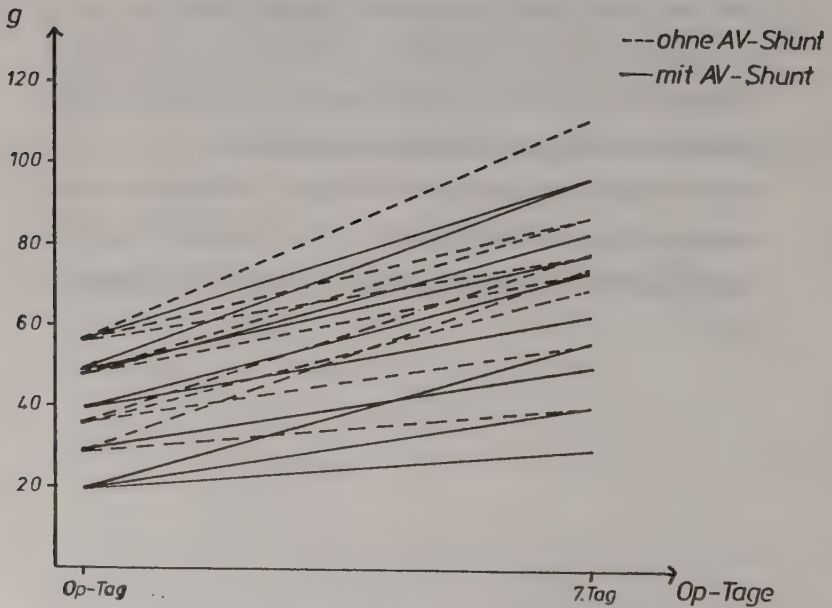


Abb 30: Gewichtszunahme des Organs nach autologer zervikaler Pankreassegment-
transplantation

3.4. Das Speichelödem unter Venalot^R Therapie

Ziel dieser Versuchsreihe war es, das postoperative Speichelödem durch tägliche intravenöse Gabe von 1mg Coumarin/kg Körpergewicht (Venalot^R) bis zum 4. postoperativen Tag zu beeinflussen. Zur Quantifizierung des Speichelödems wurde präoperativ und am 10. postoperativen Tag nach Explantation das Gewicht des Transplantates gemessen. Zusätzlich erfolgte eine Durchblutungsmessung am Operationstag und am 4. postoperativen Tag in der unter 2.12. beschriebenen Weise, sowie eine histologische Untersuchung und Kontrolle der exokrinen und endokrinen Organfunktion. Es wurden in jeder Gruppe 5 Hunde ohne distalen AV-Shunt operiert und beobachtet. In beiden Gruppen kam es zu einer deutlichen Gewichtszunahme des Transplantates. Dabei war die Steigerung der Venalot^R-Gruppe entgegen unseren Hoffnungen nicht geringer, sondern die Gewichtszunahme war stärker als in der Kontrollgruppe (siehe Abb.31). Die Durchblutungsmessung ergab keinen Unterschied zwischen beiden Gruppen, sie lag in der Kontrollgruppe durchschnittlich bei $0,05 \pm 0,025$ ml/grGewebe/min am Operationstag, sowie bei $0,015 \pm 0,005$ ml/grGewebe/min am 4. postoperativen Tag. In der Venalot^R-Gruppe lag sie bei durchschnittlich $0,05 \pm 0,025$ ml/grGewebe/min (gleiches Ergebnis wie in der Kontrollgruppe) am Operationstag und bei $0,015 \pm 0,001$ ml/grGewebe/min am 4. postoperativen Tag (siehe Abb.32).

Auch histologisch waren keine faßbaren Unterschiede aufgetreten. Die Kontrolle der endokrinen Organfunktion wurde durch tägliche Nüchternblutzuckerwerte und einen IVGTT am 4. postoperativen

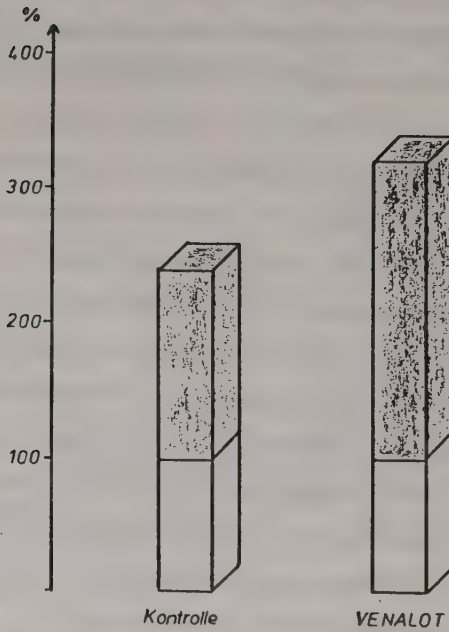
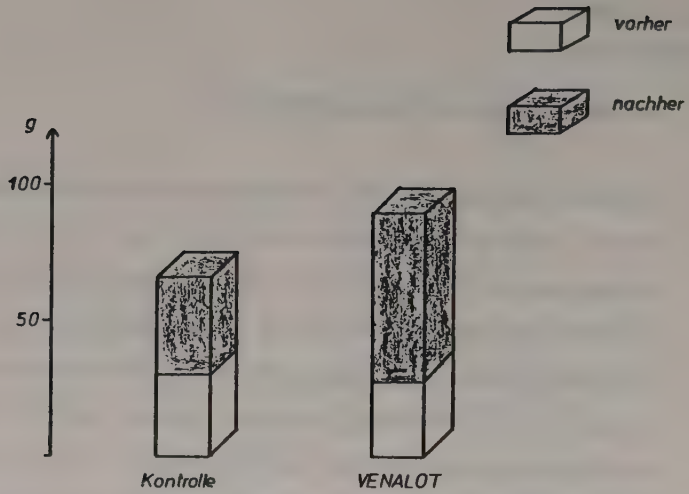


Abb 31: Gewichtszunahme des Transplantates in Gramm (oben) und in % des Ausgangsgewichtes (unten) nach 10 Tagen

Kontroll-Gruppe: n=5

Venalot-Gruppe: n=5

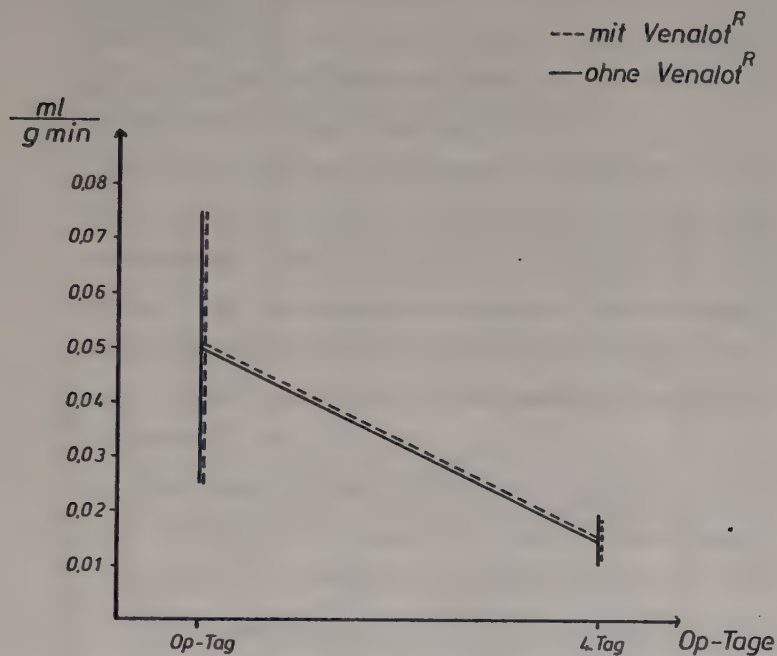


Abb 32: Durchblutungswerte der segmentalen Pankreastransplantate
(Mittelwert $\pm$ Standardabweichung)

	Kontroll - Gruppe						Venalot - Gruppe			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Versuchstiere										
Blutung	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pankreasfistel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Schwellung und Sekretion	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Infektion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0 = nein
 + = ja
 ++ = stark

Abb 33: Komplikationen nach zervikaler autologer Pankreassegmenttransplantation

Tag überwacht. Die Versuchstiere waren in beiden Gruppen über den gesamten Beobachtungszeitraum normoglykämisch. Die Nüchternblutzuckerwerte lagen zwischen 70 und 110mg%, die K-Werte der Glucosetoleranztests lagen mit Werten zwischen 1,5 und 2 im Normbereich (Berechnung siehe 2.13.2).

Die Überwachung der exokrinen Pankreasfunktion erfolgte durch tägliche Bestimmung der Amylase und Lipase, sowie durch Beobachtung der Sekretion aus dem Drainagekanal am Hals des Versuchstieres. Es zeigte sich, daß sowohl die Schwellung im Bereich des Transplantates als auch die Sekretion aus dem Drainagekanal in der Venalot^R-Gruppe erheblich stärker als in der Kontrollgruppe war (siehe Abb.33).

Die Werte für die Amylase und Lipase stiegen in beiden Gruppen bis zum 3. postoperativen Tag gegenüber dem Operationstag deutlich an, um am 4. postoperativen Tag wieder leicht abzufallen. Auffallend war dabei, daß die Werte der Venalot^R-Gruppe mit maximal 6000JE (x) gegenüber maximal 4000JE (x) für Amylase und mit maximal 1800JE (x) gegenüber maximal 950JE (x) für Lipase im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich höherlagen (siehe Abb.34,35).

Insgesamt konnte in unseren Versuchen das postoperative Speichelödem durch die Gabe von Venalot^R nicht positiv beeinflußt werden.

3.5. Ausmaß der Transplantatfibrose unter CyA-Therapie

An 29 histokompatiblen und MLC-negativen Beagles sowie an einem Schäferhund wurden autologe und allogene Transplantationen in 4 verschiedenen Gruppen durchgeführt. Es wurden

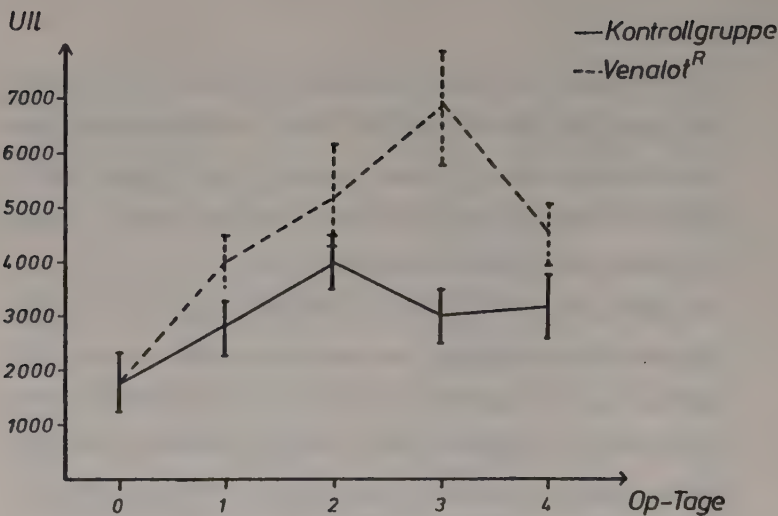


Abb 34: Postoperativer Verlauf der Serumamylase-Werte in Kontroll- (n=5) und Venalot-Gruppe (n=5) (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung)

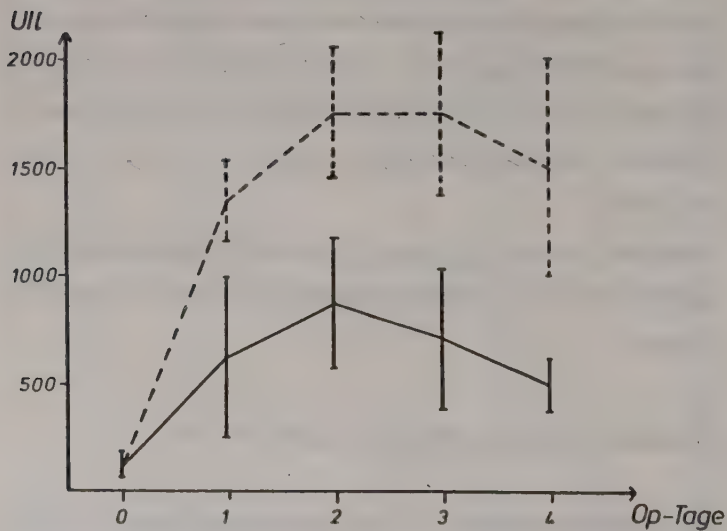


Abb 35: Postoperativer Verlauf der Lipase-Werte in Kontroll- (n=5) und Venalot-Gruppe (n=5) (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung)

prä- und postoperativ täglich die Nüchternblutzuckerwerte bestimmt, sowie ein IVGTT (präoperativ und nach 4 Wochen) durchgeführt. Zusätzlich wurde täglich die Serumamylase bestimmt. Am Ende der Beobachtungsperiode wurde das Transplantat explantiert und histologisch untersucht. 14 Versuchstiere verstarben trotz Enzymsubstitution mit Pankreon forte^R vor Ende der 4 Wochenfrist an einer durch den Verlust der exokrinen Pankreasfunktion (vollständige Pankreatektomie siehe 2.7.) bedingten Kachexie. Auch die überlebenden Versuchstiere zeigten deutliche Gewichtsverluste von 30-40% gegenüber dem Ausgangsgewicht.

Es ergaben sich somit folgende 4 Gruppen:

- Gruppe I : 5 Beagles autolog transplantiert ohne Immunsuppression
- Gruppe II : 5 Beagles autolog transplantiert mit Immunsuppression (siehe 2.14.3.)
- Gruppe III : 5 Beagles allogene transplantiert mit Immunsuppression (siehe 2.14.3.)
- Gruppe IV : 1 Schäferhund autolog transplantiert, über 12 Monate beobachtet

Die Nüchternblutzuckerwerte zeigten in allen 4 Gruppen keinen Unterschied. Alle Tiere waren normoglykämisch (siehe Abb.36). Die Blutzuckerwerte des über 12 Monate beobachteten Schäferhundes stiegen jedoch ab dem 10. Monat auf Werte zwischen 240 und 350mg% an. Auch der IVGTT dieses Tieres war mit einem K-Wert von 0,8 (siehe Abb.37) deutlich diabetisch.

Es kam zu einer zunehmenden Stoffwechselentgleisung mit erheblichen Gewichtsverlust und Verschlechterung des

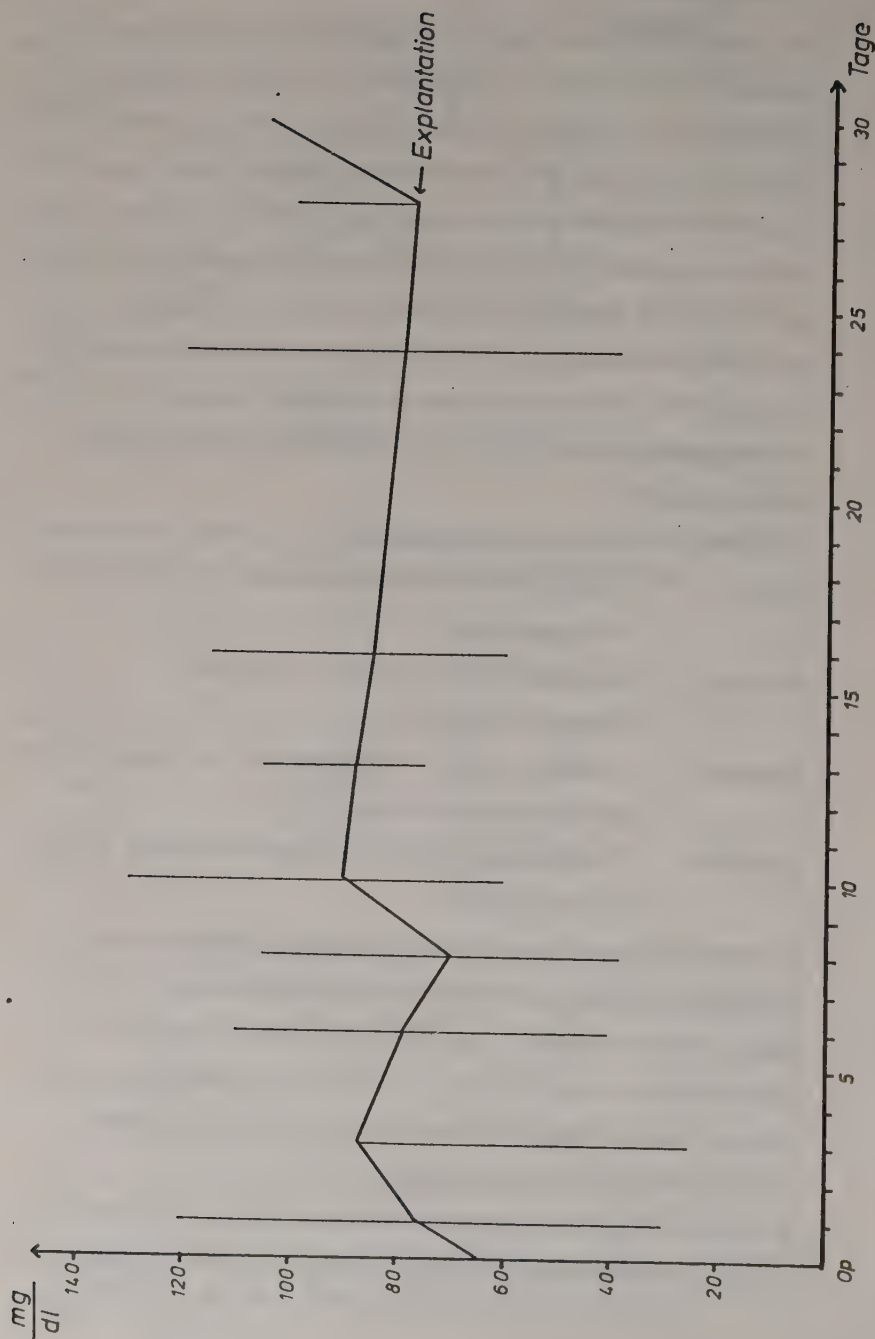


Abb 36: Durchschnittliche Nüchternserumzuckerwerte bei Fibrose-Langzeitversuchen (n=16) (Mittelwert ± Standardabweichung)

Allgemeinbefindens, so daß der Versuch nach 12 Monaten abgebrochen wurde.

Die IVGTT der Gruppen I bis III waren präoperativ praktisch identisch (siehe Abb.37). 4 Wochen postoperativ lagen jedoch nur die Tiere der Gruppe I mit durchschnittlichen Werten von $K = 1,6 \pm 0,1$ sicher im Normbereich. Die Werte der immunsuppressiv behandelten Tiere sanken jedoch bis Nahe an den Grenzbereich ($K = 1,0-1,2$), ließen jedoch mit Werten von $1,3 \pm 0,1$ in Gruppe II und $1,2 \pm 0,1$ in Gruppe III gerade noch ausreichende Stoffwechselsituationen erkennen (siehe Abb.37).

Die Serumamylasewerte waren in allen 4 Gruppen gleich (siehe Abb.38). Nach anfänglich deutlichem Anstieg bis auf 3000JE/ml erfolgte bis zum 10. postoperativen Tag ein Abfall auf Werte um 1700JE/ml. Auf diesem Niveau blieben die Werte bis zum Ende der Versuchsserie (siehe Abb.38) und lagen damit über dem gesamten Zeitraum über dem Normbereich (bis 1000JE/ml). Nach 4 Wochen (bzw. 12 Monaten in Gruppe IV) wurden die Transplantate entfernt und nach den unter 2.13.6. dargestellten Gesichtspunkten histologisch untersucht.

Es ergaben sich dabei folgende Ergebnisse:

Gruppe I : Die Präparate zeigten eine mittelgradige, interlobuläre und herdförmig intralobuläre Fibrose, gut erhaltene zum Teil dilatierte Azini. Große Inselzellen mit zum Teil vakuolisiertem Zytoplasma. Ein Nachweis von Ethibloc^R war nicht mehr möglich (siehe Abb.39).

Gruppe II : Hier fand sich eine breite interlobuläre Fibrose, die herdförmig auf die Läppchen übergreift und stellenweise dichte perilobuläre Lymphozyteninfiltrate und Plasmazellen aufweist. Die Azini sind teilweise gut

Gruppe	praesoperativ	4 Wochen postoperativ	nach 10 Monaten
I (n=5)	$2,5 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$	-
II (n=5)	$2,6 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$	-
III (n=5)	$2,4 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	-
IV (n=1)	2,5	1,7	0,8

Abb 37: Durchschnittliche K-Werte bei Fibrose - Langzeitversuchen (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung)

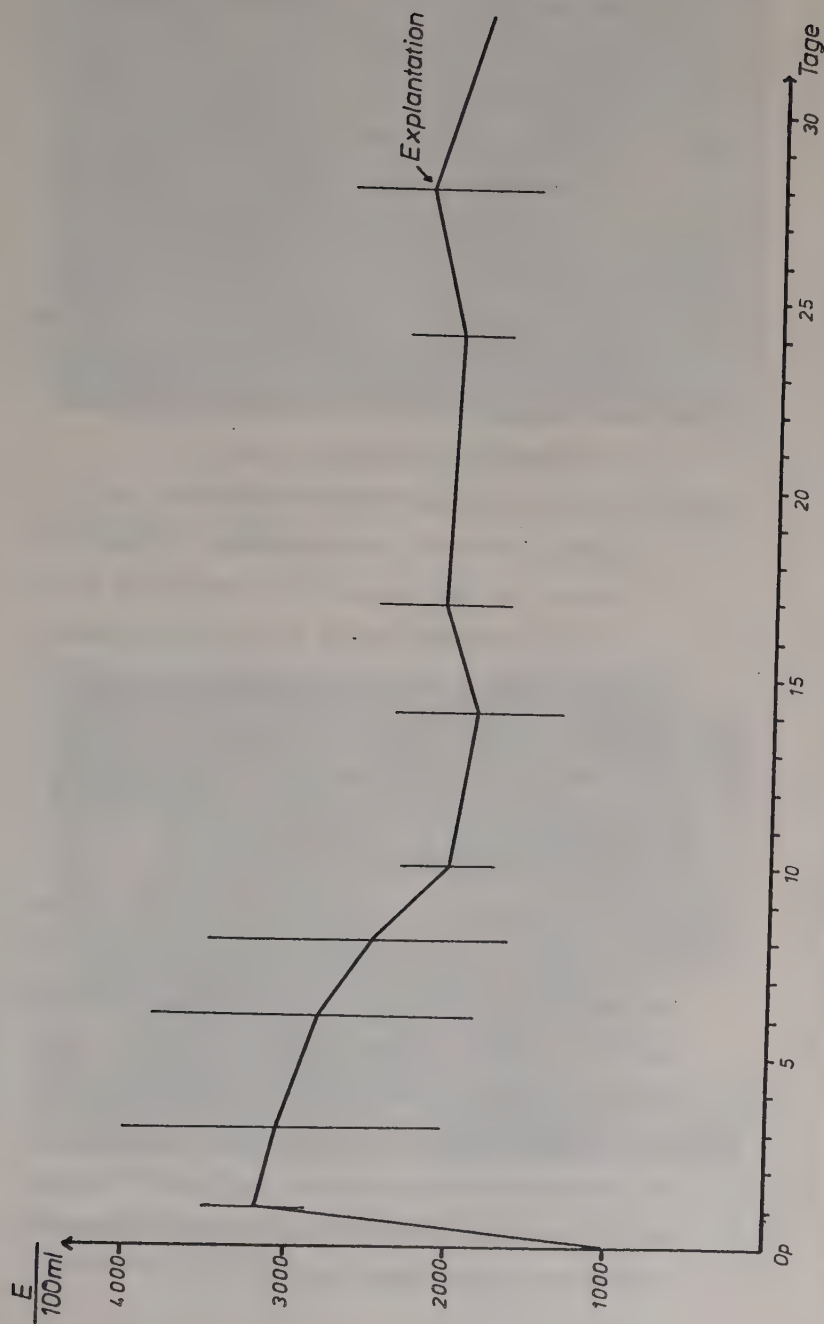


Abb 38: Durchschnittliche Serumamylasewerte bei Fibrose-Langzeitversuchen ($n=16$) (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung)

erhalten und dilatiert. Es zeigen sich vereinzelt im Fibrosebereich liegende Inseln. Kein Nachweis von Ethibloc^R (siehe Abb.40).

Gruppe III : Die histologische Aufarbeitung ergab eine breite, überwiegend zellarme interlobuläre Fibrose. Es fanden sich herdförmig perilobulär dichte Granulozyteninfiltrate. Die intralobuläre Fibrose war nur mäßig ausgeprägt. Die Langerhansschen Inseln zeigten eine teilweise deutliche Zytoplasmavakuolisierung und lagen isoliert im Fibrosebereich. Auch hier konnte kein Ethibloc^R nachgewiesen werden (siehe Abb.41).

Gruppe IV : Bei der Revision nach 12 Monaten konnte makroskopisch kein Pankreasgewebe nachgewiesen werden. Erst die histologische Untersuchung zeigte vereinzelt Pankreas gewebe mit einer höchstgradigen Fibrose und nur mehr wenige Inselzellen (siehe Abb.42).

Unsere Versuchsreihe ergab damit:

1. Die Immunsuppression mit Cyclosporin A bewirkt (zumindest über den Beobachtungszeitraum von 4 Wochen) keine Zunahme der Transplantatfibrose.
2. Die Immunsuppression mit CyA behindert die Phagozytose von Ethibloc^R weder im autologen noch im allogenen Versuch.
3. Die Immunsuppression hat (innerhalb der ersten 4 Wochen p.op.) keine negativen Einfluß auf die Nüchternblutzuckerwerte, führt jedoch zu einer geringgradig schlechteren Glucosebelastung.
4. Die Transplantatfibrose schreitet auch nach 4 Wochen weiterfort und führt in unserem Experiment nach 12 Monaten zum Erlöschen der endokrinen Funktion.

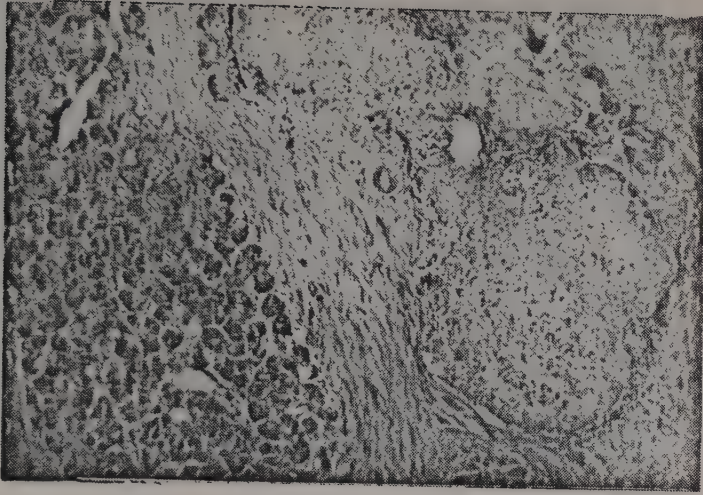


Abb 39: Histologische Veränderungen in Gruppe I
(Erläuterung siehe Text)

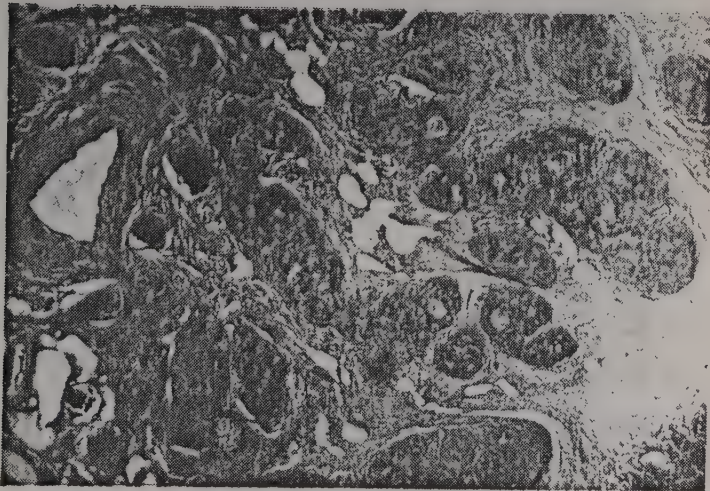


Abb 40: Histologische Veränderungen in Gruppe II
(Erläuterung siehe Text)

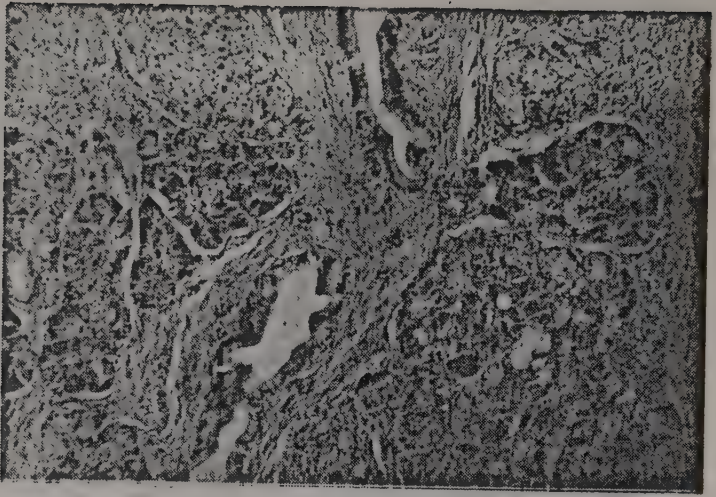


Abb 41: Histologische Veränderungen in Gruppe III
(Erläuterungen siehe Text)

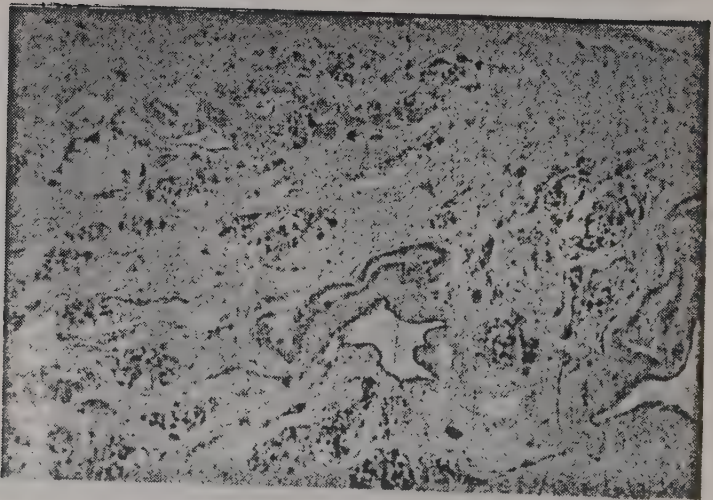


Abb 42: Histologische Veränderungen in Gruppe IV
(Erläuterungen siehe Text)

3.6. Abstoßungsdiagnose mit Hilfe der Feinnadelaspirationszytologie

Das Erkennen einer beginnenden Abstoßungskrise stellt eines der größten Probleme in der klinischen Pankreastransplantation dar. Wir haben deshalb versucht in unserer Versuchsreihe die in der Nierentransplantation erfolgreich angewandte Feinnadelaspirationszytologie auf die Pankreastransplantation anzuwenden. In unseren Untersuchungen wurden 20 histokompatible, MLC-negative Beagles in 3 Gruppen eingeteilt. Die Tiere in Gruppe I und II erhielten nach allogener Transplantation täglich CyA in üblicher Dosierung (siehe 2.14.3), wobei in Gruppe II nach 3 Wochen für 2 Tage keine immunsuppressive Therapie durchgeführt wurde. Die Hunde von Gruppe III erhielten von Beginn an keine Immunsuppression.

Es wurden täglich die Nüchternblutzuckerwerte, sowie die Plasmainsulinspiegel bestimmt. Präoperativ und 4 Wochen postoperativ wurde ein IVGTT durchgeführt. Nach Explantation erfolgte eine histologische Untersuchung. Die Nüchternblutzuckerwerte lagen bei allen Versuchstieren in der Norm und schwankten zwischen 70 und 110mg%. Der präoperativ gemessene Glucoseassimilationskoeffizient zeigte mit durchschnittlich $K = 1,8 \pm 0,1$ eine gute Stoffwechsellage an. Nach 4 Wochen sank dieser Wert wie schon bei den unter 3.5. beschriebenen Experimenten auf Werte von $K = 1,2 \pm 0,1$ ab. Dies bedeutet eine grenzwertig eingeschränkte Insulinantwort auf Glucosebelastung. Die täglich kontrollierten Insulinspiegel sanken von $25 \pm 10 \mu\text{U/ml}$ Plasma zu Beginn der Versuchsserie auf $10 \pm 6 \mu\text{U/ml}$ Plasma nach 4 Wochen ab. Es deutete sich damit eine beginnende endokrine Insuffizienz an.

Die täglich durchgeführten Feinnadelpunktionen (siehe Abb.43) zeigten leider nicht den erhofften Erfolg. Trotz der oberflächlichen, gut tastbaren Lage des Organs, gelang es nur in 10% der Punktionen verwertbare Asparate zu gewinnen. 90% der Asparate mußten wegen folgender Probleme verworfen werden:

1. zu geringe Anzahl gewonnener Zellen um eine objektive Aussage machen zu können
2. blutiges Aspirat durch Punktion der Arteria- oder Vena lienalis
3. eitriges Punktat durch Entzündung des Speichelödems
4. "Parapunktion" ohne Gewinnung von aspirattypischen Zellen, durch ein massives Speichelödem
5. Punktion von nekrotischen Bezirken, sowohl intraparenchymatös als auch des umliegenden Fettgewebes

Bei geglückten Punktionen konnten die unter 2.15.2. beschriebenen Zellen gefunden werden. Im Gegensatz zur Feinnadelbiopsie bei Nierentransplantation war jedoch eine Unterscheidung der Parenchymzellen, endokrin oder exokrin, unter dem Lichtmikroskop nicht möglich.

In Gruppe I fand sich parallel zur Zunahme der Granulozyten im peripheren Blut auf 70% ein Anstieg im Aspirat auf 80%. Diese Werte reduzierten sich am Ende der 3. Woche auf 50%. Die Anzahl der Monozyten stieg bei einigen Versuchstieren auf Werte um 30% an, fielen gegen Ende der 2. Woche auf 10% zurück. Die Anzahl der Lymphozyten erreichte vereinzelt bis zu 20%.

In Gruppe II konnte trotz mehrmals täglich durchgeführter Punktionen zum Zeitpunkt des Blutzuckeranstieges auf 300mg% unter CyA-Pause kein signifikant anderes Zellbild gefunden werden. Auch fanden sich keine für eine Abstoßungskrise bei

Nierentransplantation typischen Zellbilder mit Monozyten und Macrophagen.

In Gruppe III konnte ab dem 4. postoperativen Tag nur noch nekrotisches Zellmaterial punktiert werden. Die bis dahin gewonnenen Aspireate zeigten einen deutlichen Anstieg von Lymphozyten, Blasten und Monozyten.

Trotz über 500 durchgeführter Feinnadelpunktionen gelang es uns in keinem Fall eine Korrelation zu den klinischen Parametern der Abstoßung herzustellen.

Insgesamt erwies sich die Ausbeute der Punktionen als zu unsicher um für die Diagnose einer Abstoßung brauchbar zu sein.



Abb 43: Technik der Feinnadelpunktion am zervikal transplantierten Pankreassegment

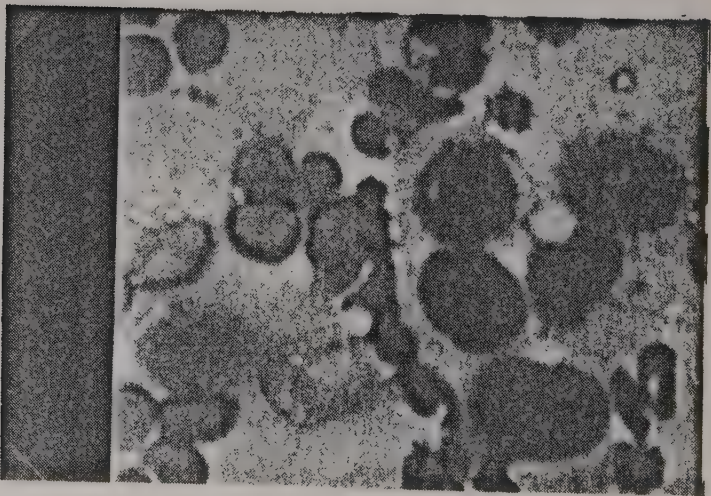


Abb 44: Beispiel einer durch Feinnadelpunktion gewonnenen Zellsuspension (Endothelzellen)

IV Diskussion

- 4.1. Die Verwendung des caninen Transplantationsmodells zur Studie chirurgischer Probleme der Pankreas-segmenttransplantation
- 4.1.1. Anatomische Variationen der Gefäßversorgung des linken Pankreaslappens beim Hund

Die von uns gefundenen anatomischen Variationen der Arteria pancreatica wurden auch von anderen Untersuchungen bestätigt. So fand van Schilfgaarde (90) in 80% einen Abgang einer Arteria pancreatica aus der Arteria lienalis und in 20% eine Versorgung aus der Arteria mesenterica superior. Bei dem Versorgungstyp aus der Arteria lienalis unterscheidet er zwischen einem Abgang der Arteria pancreatica propria weniger als 5mm distal des Ursprungs der Arteria lienalis am Truncus coeliacus und einem Abstand von 5 bis 10mm ab dem Truncus coeliacus.

Cadete-Leite injizierte eine 30% Azeton-Lösung gemischt mit Plastikmaterial (Rhodopon Ax85/15) in die Aorta und untersuchte nach Sektion die anatomischen Variationen der Gefäßversorgung am Pankreas (19). Dabei zeigte sich, daß die Versorgung des linken Pankreaslappens aus Ästen der Arteria lienalis, Arteria mesenterica superior, Arteria hepatica communis sowie der Arteria gastroduodenalis erfolgen kann. Er wertete darüberhinaus die Anzahl der kleinen Äste die den linken Pankreaslappen von der Arteria lienalis aus versorgen (entspricht dem TypA in unseren Versuchen) aus.

Bei Sektionen an 30 Hunden fanden Gomercic und Babic (38) eine Versorgung aus der Arteria lienalis und der Arteria mesenterica superior.

In einer Arbeit über die technischen Probleme der segmentalen Pankreastransplantation untersuchten Florack et al (33) sowohl die Variationen der arteriellen, als auch der venösen Gefäßversorgung des linken Pankreassegmentes. Er fand dabei in 90% eine Versorgung aus der Arteria lienalis und in 10% aus der Arteria mesenterica superior. Die venöse Drainage, die normalerweise über die Vena lienalis in die Vena portae erfolgt, zeigte folgende Variationen. In 30% mündet eine eigene Vena pancreatica direkt in die Vena portae, in 4,6% findet diese Einmündung in die Vena portae direkt gegenüber der Einmündung der Vena lienalis statt. In 2 Fällen wurde eine Einmündung einer Vena pancreatica in die Vena mesenterica superior beobachtet.

Alle Untersucher (19,33,38,81,86,90) geben in Abhängigkeit von den Gefäßvariationen unterschiedliche Operationsmethoden an. Zur Anwendung kamen dabei End-zu-End und End-zu-Seit Anastomosen der Arteria lienalis bzw. der Arteria pancreatica mit der Arteria iliaca, sowie Interpositionen an der Arteria iliaca.

Die von van Schilfgaarde angeführte Unterscheidung eines Abstandes der Arteria pancreatica vom Truncus coeliacus unter bzw. über 5mm war aus zwei Gründen für unsere Operationsmethode ohne Bedeutung. Erstens erfolgte die Anlage des distalen AV-Shuntes grundsätzlich extrakorporal während der kalten Ischämiezeit und nicht wie bei van Schilfgaarde in Abhängigkeit von der anatomischen Variation in situ. Zweitens führten wir die Perfusion des linken Pankreassegmentes

grundsätzlich von retrograd über die Arteria lienalis und nicht von antegrad über den Truncus coeliacus durch.

Die Anzahl der Äste (siehe TypA in unserer Untersuchung) wie bei Cadete-Leite spielte durch die Anastomisierung der Arteria lienalis mit der Arteria carotis communis End-zu-Seit in unseren Versuchen keine Rolle.

Insgesamt bestätigt die Literatur, mit Ausnahme geringfügiger Abweichungen in den Prozentzahlen, die von uns gefundenen Gefäßvariationen. Die von Florack untersuchten venösen Variationen konnten wir in unseren Versuchen nicht bestätigen. Möglicherweise waren aber unerkannte Variationen eine Ursache für die unter 3.1.1. beschriebenen Fälle mit unzureichender Durchblutung des Transplantates (eine nicht erkannte venöse Variation führt nach Eröffnung der Anastomose zur Stase im kapillaren Gefäßsystem mit anschließender Thrombosierung).

Zusammenfassend kann man feststellen, daß die Verwendung des linken Pankreaslappens bei der Pankreastreansplantation am Hund zur Untersuchung chirurgisch technischer Probleme der menschlichen Pankreastreansplantation unter Beachtung der beim Hund zahlreich aufgetretenen Gefäßvariation aufgrund der ähnlichen anatomischen Situation (33) ein ideales Modell darstellt.

4.1.2. Unterschiedliche operative Methoden zur Verbesserung der Transplantatdurchblutung

Viele Untersuchergruppen (20,24,26,30,33,41,52,77, 107) haben versucht durch verschiedene chirurgische Verfahren die Thromboserate der Arteria und Vena lienalis zu senken und die

Organdurchblutung zu verbessern. Man erhoffte sich damit, durch verschiedene Fistel-, Anastomosen- und Interpositionstechniken, eines der Hautproblem der Pankreastransplantation zu lösen. In den bisherigen Untersuchungen wurde jedoch eine Messung der Durchblutung im Organ selbst nicht durchgeführt, so daß der Erfolg der Operationsmethode lediglich an der Thromboserate im Vergleich zu einer Kontrollgruppe oder durch Flow-Messungen an der Arteria lienalis (41) oder dem Truncus coeliacus (20) gemessen werden konnte. Ein zusätzliches Problem bei der Bewältigung dieser Schwierigkeiten stellt die Tatsache dar, daß das Pankreas in situ eine erheblich geringere Durchblutung als andere Organe aufweist. So errechnete Slavotinek (93) eine Durchblutung von 0,06 ml/gmin für das in situ belassene Pankreas. Ein Vergleich, der in unseren Versuchen durchgeführten Durchblutungsmessung, mit der Durchblutung von Niere, Halsmuskel, Lunge und Zunge (siehe Abb.45) zeigt, daß die Durchblutung des Pankreas in situ z.B. nur 1/100 der Nierendurchblutung beträgt.

Teixeira und Bergan (107) konnten eine Abhängigkeit der Thromboserate von der Anastomosentechnik der Vena lienalis zeigen. Sie anastomosierten die Vena lienalis End-zu-Seit mit der Vena cava. Dabei war das Operationsergebnis bei 30 von 34 Versuchen mit einer End-zu-Seit Anastomose der Arteria lienalis mit der Arteria iliaca und bei 14 von 18 Versuchen mit einer End-zu-End arteriellen Anastomose erfolgreich. Bei gleicher arterieller Operationstechnik sank die Erfolgsrate bei einer Anastomose der Vena lienalis mit der Vena portae in End-zu-End Technik auf 2 von 20 Versuchen (arteriell End-zu-Seit) bzw. auf 2 von 10 Versuchen (arteriell End-zu-End). Die Ursache für das schlechte Ergebnis der

	Op-Tag	3. Tag	6. Tag
Niere	5,5	6,8	5,2
Halsmuskel	0,8	0,75	0,9
Lunge	9,8	3,9	3,8
Zunge	2,3	3,2	3,3

Abb 45: Durchschnittliche Durchblutung anderer Organe (g Gewebe min^{ml}
Mittelwerte)

venösen End-zu-End Anastomose lag im Verschluß des Lumens an der Nahtstelle bei sehr niedrigem Blutfluß und sehr niedrigem Blutdruck (venöses Niederdrucksystem).

Dickermann (26) versuchte den Flow in der Vena lienalis durch Interposition an der Vena cava inferior zu erhöhen. Er erreichte dabei eine Senkung der Thromboserate von 40% auf 15%.

Calne (20) führte Durchblutungsmessungen am Truncus coeliacus durch. Dabei konnte er zeigen, daß nach Ligatur der Arteria hepatica communis, der Arteria gastrica sinistra und der Arteria lienalis distal des linken Pankreaslappens die Durchblutung auf 10% des Ausgangswertes absank. Dieser Wert erreichte 75% der Ausgangsdurchblutung nachdem eine distal angelegte AV-Fistel zwischen Arteria und Vena lienalis geöffnet wurde. Seine Messungen ergaben, daß dieser Shunt darüberhinaus jedoch keinen Einfluß auf den mittleren arteriellen Blutdruck oder den zentralen Venendruck hat. Das Absinken der Durchblutung auf 10% des Ausgangswertes stellt selbst bei in situ belassenem Organ eine Prädisposition für arterielle Thrombosen dar.

Gooszen und Mitarbeiter (41) führten erstmals Messungen des Blutflusses durch die Arteria pancreatica durch. Sie ermittelten dabei eine Durchblutung der Arteria pancreatica von nur 20% des Blutflusses durch die Arteria lienalis. In ihren Versuchen ergaben sich darüberhinaus große Schwankungen in der Durchblutung des linken Pankreassegmentes zwischen den einzelnen Versuchstieren. Es gelang nur bei einer von 16 Versuchsreihen alle erwünschten Parameter zu messen. Nach Anlage eines distalen AV-Shuntes konnten sie eine Erhöhung des Blutflusses durch die Arteria lienalis

auf das Doppelte nachweisen. Ein Einfluß auf die Durchblutung der Arteria pancreatica blieb jedoch aus.

Florack (33) untersuchte den Einfluß der arteriellen Anas-tomosentechnik, bei konstanter venöser End-zu-Seit Anastomose, mit der Arteria iliaca externa. Er führte eine Interposition der Arteria lienalis an der Arteria iliaca externa, eine End-zu-End Anastomose der Arteria lienalis mit einem langen Segment der Arteria iliaca externa, sowohl mit als auch ohne distalen AV-Shunt, und eine End-zu-Seit Anastomose der Arteria lienalis mit der Arteria iliaca externa, mit und ohne AV-Shunt, durch. Er konnte zeigen, daß dabei die niedrigste Komplikationsrate durch die End-zu-Seit Anas-tomosentechnik zu erreichen war.

In Übereinstimmung mit den von anderen Forschern gefundenen Ergebnissen haben wir in unseren Versuchen die mit der geringsten Komplikationsrate behaftete Operationstechnik, nämlich sowohl arteriell als auch venöse End-zu-Seit Anastomose, gewählt. Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Gruppen konnten wir jedoch mit der Durchblutungsmessung mit Hilfe von radioaktiven Microspheres die tatsächliche Durchblutung des Pankreas-parenchyms in Abhängigkeit von der Operationstechnik messen. Dabei konnten wir zeigen, daß der bisher zur Erhöhung des Flows durchgeführte AV-Shunt keine Verbesserung der Durchblutung des Pankreasparenchyms mit sich bringt. Wie schon von Calne (20) und Gooszen (93) vermutet führt der AV-Shunt über eine Erhöhung des Blutflusses durch Arteria und Vena lienalis zu einem Steal-Phänomen. In der Phase des postoperativen Speichelödems mit erhöhtem intraparenchymatösen Druck umgeht das Blut durch

den geringeren Widerstand in der Arteria lienalis nach Fistelung mit der Vena lienalis das Kapillarsystem des linken Pankreaslappens.

Dies zeigt auch die Tatsache, daß wir keinen Unterschied in der Thromboserate zwischen beiden Operationstechniken (mit bzw. ohne AV-Shunt) feststellen konnten. Ob eine Senkung der Thromboserate durch eine offene Drainage des Ductus pancreaticus wie von Helling (52) angegeben gegenüber der Erhöhung der Komplikationen durch das exokrine Sekret von Vorteil ist, muß durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Die von Dickermann (26) angegebene Interposition des Transplantates an die iliacale bzw. cavale Zirkulation führt zwar zu einer deutlichen Senkung der Thromboserate, stellt jedoch ein chirurgisch sehr schwieriges und aufwendiges Verfahren dar.

So scheint die derzeit beste Technik für die Pankreassegmenttransplantation die End-zu-Seit Anastomose ohne distalen AV-Shunt darzustellen.

4.2. Unterdrückung der Transplantatpankreatitis durch Reduktion des postoperativen Speichelödems mit medikamentöser Therapie

Neben der Thrombose der Arteria und Vena lienalis stellt die postoperative Transplantatpankreatitis eine der Hauptursachen für Transplantatverluste und postoperative Komplikationen dar. Deutlich sichtbarer Ausdruck der entzündlichen Reaktion ist das Speichelödem. Die Ursache für das Austreten des exokrinen Sekrets in das Interstitium liegt in der hypoxisch (kalte und warme Ischämie), mechanisch (chirurgische Manipulation) und biochemisch

(Abstoßungsreaktion) bedingten Schädigung der Zellmembran (68). Die im Paravasat enthaltenen Enzyme des exokrinen Pankreas führen zu Nekrosen des Fettgewebes, der Muskulatur, der Gefäße sowie zur Autolyse des Transplantates (2). Durch das am 3. und 4. postoperativen Tag maximal auftretende Speichelödem erhöht sich darüberhinaus der intraparenchymatöse Druck und führt zu einem erhöhten Thromboserisiko (2,3,7,8). Im weiteren postoperativen Verlauf führt die bindegewebige Organisation des Speichelödems zu einer interstitiellen Fibrose (34). Einen zusätzlichen pathogenetischen Faktor bei der Entstehung des Speichelödems stellt die Gangocclusion mit Ethibloc[®] dar (34). Dieser Effekt muß jedoch gegenüber den Komplikationen bei offener Drainage des exokrinen Sekrets in die Bauchhöhle in Kauf genommen werden. Positive Versuchsergebnisse mit offenem Ductus pancreaticus an Ratten, Schweinen und Hunden (99) konnten bei der humanen Pankreastransplantation nicht bestätigt werden. Das frei in die Bauchhöhle drainierte Sekret führt zu Anastomoseninsuffizienzen als Folge der Selbstverdauung (66) und übersteigt oftmals die Absorptionskapazität des Peritoneums. In der Folge kommt es zur Ausbildung von Aszites und Peritonitis (42,102). Bisherige Versuche die Entstehung des Speichelödems durch Medikamente zu beeinflussen brachten nicht den gewünschten Erfolg. Weder die Gabe von Glucagon (62), Atropin, Prostaglandinen oder Proteinaseinhibitoren (111) führten zu einer signifikanten Verringerung des Speichelödems. Statt dessen kam es zu erheblichen Nebenwirkungen wie Ileus, Tachykardie und Hypotonie.

So kam in unserer Versuchsreihe eine Mischung aus Coumarin und Sodium-rutin-sulphate (SRS) (Venalot[®]) als antiödematöse Substanz

zur Anwendung. Die von Casley-Smith (22) festgestellte Wirkung von Venalot^R auf die Zellpermeabilität, die Proteolyse und die Makrophagentätigkeit wurde von Bartos (4) und Nozickova (83,84) in einer Studie bei experimenteller Pankreatitis erprobt: Bartos konnte dabei bei in situ belassenem Organ eine Reduktion des Ödems, eine geringere Ausbreitung der Fettgewebsnekrosen und eine Abnahme der hämorrhagischen Nekrosen nachweisen. Nozickova konnte nach ischämischer Schädigung des Pankreas in der post-ischämischen Phase eine Erhöhung der exokrinen Sekretion, der Produktion von Amylase und Bikarbonat sowie eine Reduktion des kapillaren Widerstandes und dadurch bedingt eine bessere Organdurchblutung messen.

Ähnlich wie in den beiden vorher genannten Untersuchungen kam es in unserer Versuchsreihe zu einem deutlichen Anstieg der Serumamylase und Lipase gegenüber der Kontrollgruppe. Auch die Schwellung und Sekretion waren erheblich stärker ausgeprägt, als in der nicht behandelten Gruppe.

Somit erwies sich die venöse Gabe von Venalot^R als nachteilig für die Reduktion des postoperativen Speichelödems. Es konnte kein therapeutisch erwünschter Effekt erzielt werden, im Gegenteil waren die Versuchsergebnisse unter Venalot^R-Therapie schlechter, so daß in allen weiteren Versuchen auf diese Medikation verzichtet wurde.

Die Ursache, weshalb wir den von Bartos beschriebenen antiödematösen Effekt nicht nachweisen konnten, kann nur vermutet werden. Wahrscheinlich spielt die Erhöhung der Sekretion (in unseren Versuchen war ein Abfluß durch den Ductus pancreaticus wegen der Gangocclusion mit Ethibloc^R nicht möglich)

sowie der lymphangiokinetische Effekt (bei Bartos blieb das Organ in situ, nach Transplantation sind die Lymphgefäße durchtrennt) von Venalot[®] eine entscheidende Rolle. Offensichtlich überwiegen diese beiden Effekte den positiven Einfluß von Venalot[®] auf die Makrophagentätigkeit, so daß bei nicht in situ belassenen Pankreas kein das Speichelödem reduzierender Einfluß besteht. Dies ist für die segmentale Pankreastransplantation umso weniger zu erwarten, da unsere Versuchsreihen im autologen System durchgeführt wurden. Bei allogener Transplantation muß man befürchten, daß durch die immunsuppressive Therapie der positive Effekt von Venalot[®] auf die Makrophagentätigkeit beeinträchtigt wird.

4.3. Langzeitergebnisse unter Immunsuppression im allogenen Modell

Die Organüberlebenszeiten der humanen Pankreastransplantation liegen weit unter den sehr guten Ergebnissen bei der Nierentransplantation. Problematisch erwies sich dabei besonders die bisherige Immunsuppression mit Azathioprin und Steroiden. Die Verwendung von Cortison zur Vermeidung einer Abstoßungsreaktion bei Pankreastransplantation wirkt wegen seiner insulinantagonistischen Wirkung in der Peripherie eine Vielzahl von Problemen auf. Durch die Einführung von Cyclosporin A auch in der Pankreastransplantation konnten die Organüberlebenszeiten deutlich verbessert werden (21,31,109). Jedoch stellte sich hierbei die Frage, inwieweit die offenbar durch CyA bei der Nierentransplantation verursachte interstitielle Fibrosierung Einfluß auf die Pankreasfibrose nach Gangocclusion

mit Ethibloc[®] nimmt (8,10,16,23,34,65,74,76,111,115). Dubernard (28) untersuchte die Fibrosierung des in situ belassenen linken Pankreaslappens nach Gangocclusion. Er fand bei der histologischen Untersuchung in einem durch Second-look-Operationen entnommenen Pankreasgewebe im 12. und 24. postoperativen Monat eine deutliche Fibrose mit intakten Inselzellen. Eine Zunahme der Fibrose zwischen dem 12. und 24. postoperativen Monat konnte er nicht nachweisen.

DuToit (31) fand auch bei freier Drainage des exokrinen Sekrets eine Fibrosierung des Pankreastransplantates. Die Überlebenszeiten waren in seinen Versuchen unter CyA-Therapie gegenüber der herkömmlichen Behandlung mit Azathioprin und Steroiden verbessert. Jedoch mußte die orale Dosis aufgrund der schlechten Resorption bei Steatorrhoe nach totaler Pankreatektomie höher als bei Nierentransplantation angesetzt werden. Darüberhinaus zeigte sich in seinen Versuchen eine postoperative Hypoglykämie, die er mit der Denervation des Pankreassegmentes und der systemischen Drainage der endokrinen Sekretion erklärt. Die bei IVGTT's gefundene verzögerte Insulinantwort konnte er nicht ausreichend erörtern. Ob die Ursache dafür die systemische Drainage, die Denervation, der erhebliche Gewichtsverlust der pankreatektomierten Tiere oder eine Nebenwirkung von CyA ist, bleibt bisher ungeklärt. Diese Phänomene bei IVGTT's am transplantierten Pankreassegment wurden auch von Traeger (109) beobachtet. Er führt als mögliche Ursache die reduzierte Inselzellmasse im linken Pankreassegment, die Fibrosierung des Transplantates oder eine partielle Abstoßung zusätzlich zu den von DuToit (31) vermuteten Gründen an. Eine

geringfügige Verbesserung dieser Untersuchungsergebnisse konnte er bei Umstellung der immunsuppressiven Therapie von Steroiden auf CyA beobachten.

Die von Gebhardt und Stolte (34) beschriebenen normalen Nüchternblutzuckerwerte 100 Tage nach Gangocclusion bei einem in situ belassenen Hundepankreas legte die Vermutung nahe, daß die Funktion der Inselzellen auch nach einem so langen Zeitraum durch die Fibrose nicht beeinträchtigt wird. Da jedoch normale Nüchternblutzuckerwerte eine diabetische Stoffwechsellaage nicht ausschließen, führte Zühlke (115) bei an Miniaturschweinen occludierten Pankreatika Belastungs- und Stimulationstests durch. Es zeigte sich dabei eine verminderte Insulinausschüttung im Glucosebelastungstest sowie eine reduzierte Leistung der B-Zellen im Tolbutamidtest. Histologisch fand er eine kollagenreiche Sklerose mit Untergang von Inselzellen und nach 350 Tagen eine lipomatöse Umwandlung, von der man hoffen kann, daß sie nicht progredient ist und somit die Stoffwechselleistung auf dem Stand einer verminderten, aber noch ausreichenden Insulinantwort auf Belastung bestehen bleibt.

Während in zahlreichen tierexperimentellen Arbeiten (3,8,10,29,63,85,106,111) die unterschiedlichen Ausmaße der Fibrosierung bei Gangligatur bzw. -occlusion untersucht worden sind, sollte in unserer Versuchsreihe gezeigt werden, ob die Fibrose durch die Immunsuppression mit CyA beeinflußt wird. Bei den durchgeführten Transplantationen im autologen System mit und ohne Immunsuppression, sowie allogenen mit Immunsuppression konnten während der ersten 4 postoperativen Wochen keine Unterschiede in Bezug auf Nüchternblutzuckerwerte,

Amylasespiegel und Gewichtsverhalten festgestellt werden (siehe 3.5.).

In Übereinstimmung mit der Literatur (31,109) zeigten die 4 Wochen postoperativ durchgeführten IVGTT's in den mit CyA behandelten Gruppen eine Erniedrigung der K-Werte (Diskussion der Ursache siehe oben). Bei dem im Langzeitversuch nach 10 Monaten durchgeführten IVGTT ergab sich eine diabetische Stoffwechselsituation (siehe 3.5.). Diese Beobachtung, daß die Fibrose des Organs fortschreitet und zu einer zunehmenden Insuffizienz der Inselzellen führt, wurde auch von zahlreichen anderen Untersuchern (10,39,40,64) bestätigt.

Die histologische Auswertung unserer Versuchsreihen zeigte, daß Ethibloc^R auch unter Immunsuppression sowohl im autologen als auch im allogenen System vollständig phagozytiert wird. Dies ergibt somit keinen Unterschied zu granulozytären Abräumung der Prolaminlösung ohne Immunsuppression bei in situ belassenen Organen (23,34,111).

Zusammenfassend ergaben die unter 3.5. dargestellten Experimente, daß erstens die Fibrose des Transplantates auch nach 4 Wochen p.op. weiter fortschreitet und zu einer zunehmenden endokrinen Insuffizienz führt, zweitens das Ausmaß der Fibrose im allogenen System mit Immunsuppression keinen Unterschied zum autologen System mit bzw. ohne Immunsuppression aufweist und somit durch die Gangocclusion mit Ethibloc^R und nicht durch die immunsuppressive Therapie mit CyA verursacht wird.

4.4. Möglichkeiten des rechtzeitigen Erkennens einer Abstoßungskrise

Neben den chirurgisch-technischen Problemen stellt die Abstoßung der Pankreastransplantate derzeit den limitierenden Faktor für eine frühzeitig durchgeführte Operation bei Typ1-Diabetikern dar (87,102). Die bisher erarbeiteten Kriterien für eine Abstoßungskrise des transplantierten Pankreassegmentes lassen eine rechtzeitige Therapie nicht zu. Aus diesem Grund werden bisher beinahe ausnahmslos Simultantransplantationen mit der Niere durchgeführt. Die so behandelten Patienten befinden sich jedoch vor der Transplantation bereits in einem dialysepflichtigen Gesundheitszustand, welcher den Erfolg der Transplantation zusätzlich beeinträchtigt. Man hat deshalb versucht neben dem häufigsten Kriterium einer immunreaktiven Schädigung des Pankreas, der Hyperglykämie (21,73,87,98,99,102) weitere klinische, laborchemische oder nuklearmedizinische Abstoßungszeichen zu erarbeiten.

Buckels (18) hat versucht $^{114}\text{Indium}$ markierte Thrombozyten, ähnlich der Abstoßungsdiagnose bei Nierentransplantation, für die Frühdiagnose der Pankreastransplantatabstoßung anzuwenden. Er fand dabei einen Anstieg der Radioaktivität über dem Transplantat um 94% bei beginnender Abstoßung. Inwieweit diese Ergebnisse jedoch auch auf eine Thrombose der Arteria oder Vena lienalis zurückgeführt werden können ist unklar.

Bewick (13) hat das Verhalten von Nüchternblutzucker und Insulinantwort im IVGTT als diagnostisches Kriterium für eine Abstoßungskrise untersucht. Als klinische Zeichen einer Abstoßung

wertete er bei seinen Versuchstieren zunehmenden Gewichtsverlust, Fieber, Erbrechen, körperlicher Verfall, Anstieg der Amylase und der Leukozyten. 2-3 Tage vor einer klinisch diagnostizierten Abstoßungskrise zeigte sich eine verminderte Insulinreserve im IVGTT. 1-2 Tage vor Anstieg der Nüchternblutzuckerwerte stiegen die Nüchterninsulinwerte an, um bei einer Progression dann deutlich abzufallen. Er konnte in seinen Versuchen in 76% der Fälle eine Reversion der Abstoßung erreichen, wenn die Blutzuckerspiegel nicht über 150mg/100ml und die Insulinspiegel nicht unter der unteren Norm lagen. Der Hyperinsulinismus 1-2 Tage vor klinischer Abstoßung erklärt sich durch eine Schädigung der Zellmembranen an den B-Zellen durch immunkompetente Zellen. DuToit (31) konnte in seinen Versuchen diese Ergebnisse bestätigen.

Hahn (48) hat perfusionsszintigraphische Untersuchungen mit ^{99m}Tc -DTPA durchgeführt. Dabei war es jedoch schwierig zwischen einer Abstoßung oder einer durch das Speichelödem bedingten Perfusionsstörung zu unterscheiden.

Sutherland (98,99,100,102) beschreibt in Übersichtsarbeiten das dringende Problem einer sicheren Abstoßungsdiagnose des Pankreastransplantates, da dieses bei alleiniger Transplantation offenbar fulminanter abgestoßen wird als Leber, Herz oder Niere. Die bisher beschriebenen Experimente zeigen, daß brauchbare Kriterien bisher fehlen.

Die in unseren Versuchen, von von Willebrand (113) bei der Nierentransplantation als atraumatische, sichere und zuverlässige Methode beschriebene Feinnadelaspirationszytologie brachte bisher keinen Erfolg (siehe 3.6.).

Es bedarf noch weitere chirurgischer Forschung an größeren Pankreatika (die von uns verwendeten Beagle-Pankreatika waren sehr klein und führten zu häufigen Parapunktionen) sowie der Suche nach einer immunologischen Methode zu Erkennung der Parenchymzellen im Aspirat (Frage der Verwertbarkeit des Aspirats) um in groß angelegten Studien eine Korrelation zwischen klinischen Abstoßungszeichen und Feinnadelaspirationszytologie zu erlangen.

4.5. Beurteilung des Versuchsmodells und mögliche Modifikationen

Die zervikale Pankreassegmenttransplantation am Hund eignet sich besonders im autologen System hervorragend zum Studium chirurgisch-technischer Probleme der humanen Pankreastransplantation. Unter Wegfall der im allogenen System bestehenden Komplikationen durch die Immunsuppressionen ist eine Untersuchung der technischen Probleme in optimaler Weise möglich (7,33). Das Auftreten von Nekrosen und hämorrhagischen Pankreatitiden ist unter Umständen durch leichte Blutungen aus dem Resektionsquerschnitt (3) bedingt und könnte durch den Einsatz von Fibrinklebern eventuell verhindert werden.

Die Nachteile unseres Versuchsansatzes sind in der ausgeprägten Kachexie der Versuchstiere nach Verlust der exokrinen Sekretion zu sehen. Diese zum Teil erheblichen Gewichtsverluste schränken die Möglichkeit von Langzeituntersuchungen ein. Es muß daher entweder nach einer optimaleren peroralen Enzymsubstitution oder ähnlich den Experimenten an Mäusen und Ratten nach einer Möglichkeit zur medikamentösen Zerstörung der B-Zellen auch am

Großtier gesucht werden. (Streptozotocin führt vor Erreichen einer diabetischen Stoffwechsellage am Großtier zum Exitus).

Ein weitere Nachteil ist in der paratopen Lage des Transplantates zu sehen. Durch die Drainage in die Vena jugularis fällt der am orthotopen Organ vorhandene first-pass-Effekt des Insulins durch die Leber weg. Dies beeinflußt die Beurteilung der Stoffwechselsituation in Belastungs- und Provokationstests. Auch die Durchführung eines intravenösen Glucosetoleranztestes bedeutet gegenüber der oralen Glucosebelastung eine Einschränkung in der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die humane Pankreastransplantation.

V Zusammenfassung

Die derzeitigen Möglichkeiten der Therapie für Typ I -Diabetiker können die vielfältigen Probleme dieser Patienten sowie die Beherrschung der Folgeerkrankungen nicht in optimaler Weise lösen. In großen Studien wird deshalb an der Verbesserung der derzeitigen Therapiemöglichkeiten gearbeitet.

Die in unseren Experimenten gefundenen Ergebnisse lassen folgende Schlußfolgerungen zu:

- 1) Die Anlage eines distalen AV-Shuntes zwischen Arteria und Vena lienalis führt zu keiner Verbesserung der Durchblutung des Pankreassegmentes. Es kommt im Gegenteil zu einem Steal-Phänomen. Auch die Thromboserate wird durch den Shunt nicht gesenkt.
- 2) Die medikamentöse Therapie mit Benzo-Pyronen führt zu keiner Verminderung des postoperativen Speichelödems und reduziert die Thromboserate nicht.
- 3) Die Immunsuppression mit Cyclosporin A beeinflusst die Entstehung der Transplantatfibrose nicht. Das Ausmaß der Fibrose ist ausschließlich auf die Gangocclusion mit Prolamin zurück zuführen. Der Abbau dieser alkoholischen Aminosäurelösung wird durch die immunsuppressive Therapie mit CyA nicht beeinflusst.
- 4) Die Feinnadelaspirationszytologie brachte in unseren Versuchen keine verwertbaren Kriterien für eine Abstoßungsdiagnose. Die sehr erfolgreiche Durchführung in der Nierentransplantation läßt jedoch hoffen, daß durch weitere Forschung eine Anwendung auf die Pankreastransplantation zu einem späteren Zeitpunkt möglich ist.

Literaturverzeichnis

- (1) Barker, C. F., Naji, A., Perloff, L. J., Dafoe, D. C.,
Bartlett, S.:
Invited commentary: An overview of pancreas
transplantation - biologic aspects.
Surgery 92, 133 (1982).

- (2) Bartos, V., Kolc, J., Nozickova, M., Malek, P.:
Function of autotransplanted pancreatic segment
in the dog.
J. Cardiovasc. Surg. 19, 95 (1978).

- (3) Bartos, V., Kolc, J., Nozickova, M., Malek, P.:
Segmental Transplantation of the pancreas with and
without the ligation of the duct in dogs.
Czechoslovak. Medicine 4, 43 (1981).

- (4) Bartos, V., Malek, P.:
Effect of benzopyrones on experimental pancreatitis.
Scand. J. Gastroent 14, 343 (1979).

- (5) Bartum, R. J. jr., Berkowitz, D. M., Hollenberg, N. K.:
A simple radioaktive microsphere method for measuring
regional blood flow and cardiac output.
Invest. Radiol. 9, 126 (1974).

- (6) Baumgartner, D., Sutherland, D. E. R., Najarian, J. S.:
Studies on segmental autotransplantation in dogs.
Transplant. Proc. 12 (Suppl. 2), 163 (1980).

- (7) Baumgartner, D., Sutherland, D. E. R., Najarian, J. S.:
Studies on Segmental Pancreas Autotransplants in dogs.
Technique and Preservation.
Transplant. Proc. Vol. XII, 4 (Suppl. 2), 163 (1980).

- (8) Baumgartner, D., Sutherland, D. E. R.:
Die intraperitoneale Pankreassegment-
Autotransplantation beim Hund mit und ohne Okklusion
des Pankreasganges.
Helv. chir. Acta 49, 159 (1982).

- (9) Baumgartner, D., Sutherland, D. E. R., et al.:
Segmental Pancreas Allotransplants.
J. Surg. Res. 29, 248 (1980).
- (10) Baumgartner, D., Sutherland, D. E. R., Heil, J.,
Kyriakides, G. K., Najarian, J. S.:
Long term canine segmental pancreas transplants with
the duct left open, Neopren-injected duct and
pancreatico-ureterostomy: A comparative study.
Transplant. Proc. 13 (Suppl. 1), 812 (1981).
- (11) Bergan, I. I., Hoehn, I. G., et al.:
Total pancreatic allografts in pancreatectomized dogs.
Arch. Surg. 1971, 90: 521.
- (12) Berger, M., Jörgens, V.:
Praxis der Insulintherapie.
Springer Verlag 1983.
- (13) Bewick, M., Mundy, A. R., Eaton, B., Watson, F.:
The endocrine function of the heterotopic pancreatic
allotransplant in dogs: Normal and rejection.
Transplantation 31, 15 (1981).
- (14) Bretzel, R. G., Federlin, K.:
Inseltransplantation beim Diabetiker - Ziel in Sicht?
Diabetes 11, 34 (1982).
- (15) Brooks, J. R.:
Endocrine Tissue Transplantation.
Charles C. Thomas, Springfield, Illinois 1962.
- (16) Brynger, H., Blohme, G., Claes, G., Gustafson, A.,
Gelin, L. E.:
Transplantation of a duct ligated pancreatic allograft
to a diabetic patient.
Scand. J. Urol. Nephrol. (Suppl.) 24, 59 (1975).

- (17) Buckberg, G. D. et al.:
Some sources of error in measuring regional blood flow
with radioactive microspheres.
J. Appl. Physiol. 31, 598 (1971).
- (18) Buckels, J. A. C., McCollum, C. N., Chandler, S.,
Hawker, R. J., McMaster, P.:
Can Radio-labelled Platelets be Used to Monitor
Pancreatic Transplant Rejection?
Langenbecks Arch. Chir. 357, 165 (1982).
- (19) Cadete-Leite, A.:
The Arteries of the Pancreas of the dog. An Injektion-
Corrosion and Microangiographic Study.
Am. J. Anat. 137, 151 (1971).
- (20) Calne, R. Y., McMaster, P., Rolles, K., Duffy, T. J.:
Technical Observations in Segmental Pancreas
Allografting:
Observations on Pancreatic blood flow.
Transplant. Proc. 12 (Suppl. 2), 51 (1980).
- (21) Calne, R. Y., White, D. G.:
The Use of CyA in Clinical Organ Grafting.
Ann. Surg. 196, 330 (1982).
- (22) Casley-Smith, J. R., et al.:
The actions of the Benzo-Pyrones on the Blood -
Tissue - Lymph - System.
Folia Angiologica Vol. 24 7-22 (1976).
- (23) Clemens, M.:
Akute und chronische Pankreatitis im Tierexperiment.
Fortschr. Med. 101, 1554 (1983).
- (24) Collin, J.:
Current state of the transplantation of the pancreas.
Ann. R. Coll. Surg. Engl. 60, 21 (1978).

- (25) Dick, W.:
Ketamin (Ketanest®) in Notfall und
Katastrophenmedizin.
Int. Workshop 7. World Congress of Anaesthesiologists
perimed Verlag (1981).
- (26) Dickermann, R. M., Turcotte, J. G.:
Transplantation of the pancreas into a retroperitoneal
jejunal loop.
Am. J. Surg. 48, 129 (1975).
- (27) Dres, R. M., Bergenstal et al.:
Leak of glukagon response to hypoglykämia in Type I
Diabetes after long term optimal therapy with
contineous subcutaneus insulin infusionpump.
Diabetes 32 (1983) S. 398-402.
- (28) Dubernard, J. M., Traeger, J., et al.:
Long-Term Effect of Neoprene Injection in the Canine
Pancreatic Duct.
Transplant. Proc. 11, 1498 (1979).
- (29) Dubernard, J. M., Traeger, J., Neyra, P., Touraine, J. L.,
Tranchant, D., Blanc-Brunat, N.:
A new method of preparation of segmental pancreatic
grafts for transplantation: Trials in dogs and in men.
Surg. 84, 633 (1978).
- (30) Du Toit, D. F., Reece-Smith, H., McShane, R., Denton,
T., Morris, P. J.:
A successful technique of segmental pancreatic
autotransplantation in the dog.
Transplantation 31, 395 (1981).
- (31) Du Toit, D. F., Morris, J., et al.:
Prolongation of segmental pancreatic allografts in dogs
receiving Cy A.
Tranplantation 33, 432 (1982).

- (32) Eloy, R., Bouchet, P., Clendinnen, G.:
New technic of total pancreatectomy without
duodenectomy in the dog.
Am. J. Surg. 140, 409 (1980).

- (33) Florack, G., Sutherland, D. E. R., Cavallini, M.,
Najarian, J. S.:
Technical Aspects of Segmental Pancreatic
Autotransplantation in Dogs.
Am. J. Surg. 146, 565 (1983).

- (34) Gebhardt, Ch., Stolte, M.:
Pankreasgang-Okklusion durch Injektion einer schnell-
härtenden Aminosäurelösung.
Langenbecks Arch. Chir. 346, 149-166 (1978).

- (35) Gebhardt, Ch., Gall, F. P., Meister, R.:
Möglichkeiten der Pankreastransplantation.
Fortschr. Med. 100, 238 (1982).

- (36) Gliedman, M. L., Gold, M., Whittaker, J., Rifkin, H.,
Soberman, R.:
Clinical segmental pancreatic transplantation with
uretero-pancreatic duct anastomosis for exocrine
drainage.
Surg. 74, 171 (1973).

- (37) Gliedman, M. L., Tellis, V. A., Soberman, R., Rifkin, H.,
Veith, F. J.:
Long term effects of pancreatic transplantation in
patients with advanced juvenile onset diabetes mellitus.
Diabetes Care 1, 1 (1978).

- (38) Gomercic, H., Babic, K.:
A contribution to the knowlegde of the variations of
the arterial supply of the duodenum and the pancreas in
the dog.
Anat. Anz. 132, 281 (1972)

- (39) Gooszen, H. G., van Schilfgaarde, R.:
An analysis of long term histological changes leading to decreased endocrine function after ductobliteration of the canine pancreas.
Int. Symposium on Organ Transplantation in Diabetics.
Den Haag, September 1983.

- (40) Gooszen, H. G., van Schilfgaarde, R.:
Long term endocrine function of ductobliteration in situ and autografted left canine pancreatic segment.
Int. Symposium on Organ Transplantation in Diabetics.
Den Haag, September 1983.

- (41) Gooszen, H. G., van Schilfgaarde, R., Terpstra, J.:
Arterial blood supply of the left lobe of the canine pancreas. II Electromagnetic flow measurements.
Surg. 93, 549 (1983).

- (42) Groth, C. G., Lundgren, G., Klintmalm, G., Gunnarson, R.:
Successful outcome of segmental human pancreatic transplantation with enteric exocrine diversion after modification in technique.
The Lancet II, 522 (1982).

- (43) Groth, C. G., Lundgren, G., Gunnarson, R., Arner, P., Berg, B., Ostman, J.:
Segmental pancreatic transplantation with duct ligation and drainage to a jejunal roux-en-Y loop in nonuremic diabetic patients.
Diabetes 29, 3 (1980).

- (44) Groth, C. G., Lundgren, G., Gunnarson, R., Hardstedt, G., Ostman, J.:
Segmental pancreatic transplantation with special reference to the use of ileal exocrine diversion and to the haemodynamics of the graft.
Transplant. Proc. 12 (Suppl. 2), 62 (1980).

- (45) Grünekle, D.:
Zur Insulinbehandlung.
Biomed. 3, 44 (1983).
- (46) Häyry, P., Willebrand, E.:
Practical guidelines for fine needle aspiration biopsy of
human renal allografts.
Ann. Clin. Res. 13, 288-306 (1981).
- (47) Häyry, P., et al.:
Immunobiology of transplant rejection. (A review).
Ann. Clin. Res. 1981; 13: 172-198.
- (48) Hahn, D., Büll, U., Land, W., Unertl, K.:
Pankreastretransplantation.
Münch. med. Wschr. 123, 1262 (1981).
- (49) Hammer, C., Land, W., Stadler, J., Koller, C.:
Fine Needle Biopsy - A Diagnostic Tool to Monitor Acute
Kidney Graft Rejection.
Langenbecks Arch. Chir. 357, 231 (1982).
- (50) Hales, J. R. S., et al.:
Radioactive microspheres techniques for studies of the
circulation.
Clin. and Exp. Pharm. and Physiol. 1, 31 (1974).
- (51) Hegre, O. D., Wells, L. J., Lazarow, A.:
Response of β cells to different levels of glucose: fetal
pancreases grown in organ culture and subsequently
transplanted to maternal hosts.
Diabetes 19, 906 (1970).
- (52) Helling, T. S., Christ, D. A., Reinhardt, J. R., Sinning,
M. A., Murphy, P. J.:
Segmental Pancreas Transplantation in the canine Model.
Am. J. Surg. Vol. 146, 839 (1983).

- (53) Heyman, M. A., Payne, B. D., Hoffmann, J. E. I.,
Rudolph, A. M.:
Blood flow measurements with radionuclide-labelled
particles.
Prog. Cardiovasc. Diseases 10, 55 (1970).
- (54) Hollender, L. F., Lehnart, P., Wanke, M.:
Akute Pankreatitis.
Urban und Schwarzenberg 1983.
- (55) Irsigler, K., Kunz, K. N., Owens, D. R., Regee, H.:
New Approaches to Insulin Therapy.
M. T. P. Press Lim., Lancaster 1981.
- (56) Irsigler, K., et al.:
Derzeitiger Stand der Diabetestherapie mit
Insulindosiergeräten.
Öst. Ärztetag 39/12 (1984).
- (57) Karl, R. C., Scharp, D.:
Transplantation of insulin-secreting tissues.
Gut, 18 (12) 1062-72.
- (58) Kiene, S., Brinckmann, W., Freyse, E. J., Fehrmann, P.,
Kagel, O. K.:
Autogene heterotope Pankreassegmenttransplantation
beim Hund.
Zbl. Chir. 107, 934 (1982).
- (59) Kiene, S., et al.:
Autogene heterotope Pankreassegmenttransplantation
beim Hund.
Z. Exper. Chir. 15, 191 (1982).

- (60) Klima, J., Spielberger, M., Steiner, E., Aigner, F.,
Margreiter, R.:
Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen von
Feinnadelbiopsiematerial aus Nierentransplantaten.
Kongressbericht.
Langenbecks Arch. Chir. 358, 565 (1982).
- (61) Kolb, H., Gries, F. A.:
Viruserkrankungen, Autoimmunität und Insulinmangel-
Diabetes.
Deutsch. Ärztebl. 79, 39 (1982).
- (62) Kyriakides, G. K., et al.:
Segmental Pancreatic Transplantation in Dogs.
Transplant. Proc. 11, 530 (1979).
- (63) Kyriakides, G. K., Nuttal, F., Miller, J.:
Intraperitoneal Segmental Pancreatic Allografts with
Unligated Duct in Pigs.
Transpl. Proc. 11, 927 (1979).
- (64) Kyriakides, G. K., et al.:
Intraperitoneal Segmental Pancreatic Allografts with
Unligated Duct in dogs: The Role of Histocompatibility
for Long Term Survival.
Transpl. Proc. 13, 810 (1981).
- (65) Land, W., et al.:
Simultantransplantation von Pankreas und Niere.
Chir. Praxis 27, 15 (1980).
- (66) Land, W.:
Pankreastransplantation.
Münch. med. Wschr. 124, 41 (1982).

- (67) Land, W., Liebe, W., Kuhlmann, H., Eberhard, E., et al.:
Simultaneous kidney and pancreas transplantation using
prolamine for duct obstruction.
Transplant. Proc. 12 (Suppl. 2), 76 (1980).

- (68) Landgraf, R., Abendroth, D., Land, W.:
Mechanical and Hormonal Blockade of the Pancreatic
Transplant Function in Man.
Segmental Pancreatic Transplantation.
Thieme, Stuttgart - New York 1983.

- (69) Largiader, F.:
Pankreastransplantation.
Transplantationschirurgie, Springer Verlag.

- (70) Largiader, F., Baumgartner, D., Uhlschmid, G.:
Pankreas- und Nierentransplantation bei diabetischer
Nephropathie.
Deutsch. Med. Wochenschr. 107 (14) 527-30 (1982).

- (71) Lenz, J.:
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Beeinflussung
der Magenwanddurchblutung durch selektive proximale
und trunkuläre Vagotomie.
Habil. LMU-München 1977.

- (72) Lillehei, R. C., Ruiz, J. O., Aquino, C., Goetz, F. C.:
Transplantation of the pancreas.
Acta Endocrinol. 83 (Suppl. 205), 303 (1976).

- (73) Lillehei, R. C., et al.:
Pancreaticoduodenal allotransplantation;
Experimental and clinical experience.
Ann. Surg. 172, 403 (1970).

- (74) Margreiter, R.:
Unpublished cases of two segmental pancreas transplants
at University of Innsbruck.
Transplant. Proc. 12 (Suppl. 2), 229 (1980).

- (75) Markowitz, J.:
Experimental surgery.
Williams and Wilkins, Baltimore 1959.

- (76) McMaster, P., Calne, R. Y., Rolles, K., Smith, D. J.:
Prolongation of canine pancreas allograft survival with
Cy A: Preliminary report.
Br. med. J. 16, 444 (1980).

- (77) Merkel, F. K., et al.:
Heterotopic dog pancreatic allografts.
Surg. Forum 18, 381 (1967).

- (78) Meyer, W.:
Experimentelle Pankreas-Transplantation.
Fortschr. Med. 97, 1280 (1979).

- (79) 3-M Microspheres Bibliography, Mitteilung I-BIB, 3 M
Company, Minnesota, USA, 1976.

- (80) Mihatsch, M. J., et al.:
Morphological findings in kidney transplants after
treatment with Cy A.
Transplant. Proc. (im Druck).

- (81) Miller, M. E., et al.:
Anatomy of the dog.
Saunders, Philadelphia - London 1964.

- (82) Munda, R., et al.:
Studies on Segmental Pancreatic Autotransplants in Dogs.
Arch. Surg. 118, 1310 (1983).
- (83) Nozickova, M., Bartos, V., Hachowa, L.:
The effect of benzopyrones on pancreatic secretion in anaesthetized dogs with short term ischaemia.
Materia Med. Polona Fasc. 1, 23 (1981).
- (84) Nozickova, M., Bartos, V., Hachowa, L.:
The effect of benzopyrones on the canine pancreas submitted to long term hypothermic perfusion.
Z. Exper. Chir. 14, 30 (1981).
- (85) Papachristou, D. N., et al.:
Duct-ligated Versus Duct-obiterated Canine Pancreatic Autografts: Early Postoperative Results.
Transplant. Proc. 11, 522 (1979).
- (86) Papachristou, D. N., Fortner, J. G.:
A simple Method of Pancreatic Transplantation in the Dog.
Am. J. Surg. 139, 344 (1980).
- (87) Patrick, J., et al.:
Pancreatic Transplantation.
Surg. Clin. North. Am. 61, 85 (1981).
- (88) Rudolph, A. M., Heymann, M. A.:
The circulation of the fetus in utero.
Circulation Res. 21, 163 (1967).
- (89) Schatz, H.:
Der Krankheitsverlauf und die Prognose des Diabetes mellitus.
Acta med. Austriaca 3, 154 (1976).

- (90) Schilfgaarde, R., Gooszen, H. G., Overbosch, H. E.,
Terpstra, J. L.:
Arterial blood supply of the left lobe of the canine
pancreas I. Anatomic variations relevant to segmental
transplantation.
Surgery 93, 545 (1983).

- (91) Schosser, R., et al.:
MIC-II - A program for the determination of cardiac
output, arteriovenous shunt and regional blood flow
using the radioactive microspheres method.
Comput. Prog. Biomed. 9, 19 (1979).

- (92) Schosser, R.:
Durchblutungsmessung mit radioaktiv markierten
Microspheres.
Dissertation LMU-München (1980).

- (93) Slavotinek, A. H., et al.:
The Effect of Intravenous Alcohol on Pancreatic Blood
Flow.
Langenbecks Arch. Chir. 357, 187 (1982).

- (94) Steiner, E., Stangl, M., et al.:
Durchblutungsmessung am zervikal transplantierten
Hundepankreas mit Hilfe von Microspheres.
Acta Chir. Austriaca 1983.

- (95) Steiner, E., et al.:
Technique Blood Flow Measurement and Effect of
Venalot^R Treatment in Pancreas Transplantation: An
Experimental Study in Canine Duct-occluded grafts.
Langenbecks Arch. Chir. 357, 229 (1982).

- (96) Steiner, E., Stangl, M., et al.:
Einfluß der anatomischen Variationen der Arteria
pancreatica auf die chirurgische Technik der segmentalen
Pankreastransplantation beim Hund.
Morphol. Med. 3, 109 (1983).

- (97) Sutherland, D. E. R., et al.:
Transplantation of the pancreas.
Current Status.
Ann. Rev. Med. 33, 271 (1982).

- (98) Sutherland, D. E. R.:
Pancreas and islet transplantation in Diabetes.
Diabetes 8, 60 (1982).

- (99) Sutherland, D. E. R.:
Pancreas and islet transplantation.
I. Experimental studies.
Diabetologia 20, 161 (1981).

- (100) Sutherland, D. E. R.:
Current Status of Pancreas Transplantation: Registry,
Statistics and on Overview.
Transplant. Proc. 15, 1303 (1983).

- (101) Sutherland, D. E. R., Maters, A. J., Goetz, F. C.,
Najarian, S. J.:
Transplantation of dispersed pancreatic islet tissue in
humans: autografts and allografts.
Diabetes 29, (Suppl. 1), 31 (1980).

- (102) Sutherland, D. E. R.:
Pancreas and islet transplantation.
II. Clinical trials.
Diabetologia 20, 435 (1981).

- (103) Sutherland, D. E. R.:
International human pancreas and islet transplant
registry.
Transpl. Proc. 12 (Suppl. 2), 229 (1980).

- (104) Sutherland, D. E. R., Goetz, F. C., Najarian, S. J.:
Intraperitoneal transplantation of immediately
vascularized segmental pancreatic grafts without duct
ligation.
Transplantation 28, 485 (1979).

- (105) Sutherland, D. E. R.:
International Pancreas and Islet Transplantation.
Registry, Statistics, Abstracts.
Int. Symp. on Organ Transplantation in Diabetics.
The Hague, September 1983.

- (106) Sutherland, D. E. R., Baumgartner, D., Najarian, S. J.:
Free Intraperitoneal Drainage of Segmental Pancreas
Grafts: Clinical and Experimental Observations on
Technical Aspects.
Transpl. Proc. 12 (Suppl. 2), 26 (1980).

- (107) Teixeira, D., Bergan, J. H.:
Hemorrhagic necrosis in pancreas allografts.
Arch. Surg. 95, 79 (1967).

- (108) Terasaki, McClelland:
Microdroplet assay for human serum cytotoxins.
Nature, Lond. 204: 998-1000 (1964).

- (109) Traeger, J., Dubernard, J. M., et al.:
Influence of Immunosuppressive Therapy on the
Endocrine Function of Segmental Pancreatic Allografts.
Transpl. Proc. 15, 1326 (1983).

- (110) Ungar, R. N.:
Pancreas Transplantation.
Diabetes 31, 479 (1982).

- (111) Wayand, W.:
 Okklusion des Ductus Wirsingianus - eine tierexperimentelle Studie zur operativen Ausschaltung der exokrinen Pankreassekretion.
 Acta Chir. Austriaca (Suppl.40)(1981).
- (112) White, N. H., Santiago, J. U., et al.:
 Modern Treatment of Diabetes.
 New Engl. J. Med. 308, 485 (1983).
- (113) Willebrand, E.:
 Fine Needle Aspiration Cytology of Human Renal Transplants.
 Clin. Immunol. Immunopathol. 17, 303 (1980).
- (114) Zöch, G., et al.:
 Segmentale Autotransplantation des Pankreas - Erfahrungen am Diabetesmodell total pankreatektomierter Hunde.
 Acta Chir. Austriaca 3, 272 (1983).
- (115) Zühlke, N. V., Häring, R., Watermann, U. Y., Natzer, E., Konradt, J.:
 Leistungsbilanz der Inselzellen nach Pankreasgangokklusion - ein Langzeitversuch.
 Langenbecks Arch. Chir. 360, 141 (1983).

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. W. Brendel (Institut für Chirurgische Forschung) danke ich für die Möglichkeit alle Experimente und labortechnischen Untersuchungen an seinem Institut durchführen zu können.

Herrn Prof. Dr. W. Land (Transplantationszentrum der Chirurgischen Klinik am Klinikum Großhadern) danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die Betreuung und Beratung bei der Abfassung der Arbeit.

Herrn Doz. Dr. E. Steiner (I Universitätsklinik für Chirurgie in Innsbruck) gilt mein ganz besonderer Dank für die Unterstützung und Anleitung bei der Durchführung des operativen Teils der Arbeit.

Bei den Herren Prof. Dr. R. Landgraf (Medizinische Klinik Innenstadt der Universität München) und Prof. Dr. Dr. C. Hammer (Institut für Chirurgische Forschung) möchte ich mich für die große Hilfsbereitschaft und viele nützliche Ratschläge bedanken.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. H. Arnholdt (Pathologisches Institut der Universität München) für die Aufarbeitung der histologischen Präparate, Herrn Dr. Scholz (Labor für Gewebetypisierung der Kinderklinik) für die DLA-Typisierung und Frau Krumbach (Institut für Chirurgische Forschung) für die Berechnung der radioaktiven Proben.

In besonderer Weise möchte ich mich bei Frl. Andrea Uhl für die perfekte und prompte Durchführung der Schreibarbeiten bedanken.

Lebenslauf

24.3.1959	Geboren in Aschau/Inn Obb., als Sohn des Kfz-Mechanikers Johann Stangl und seiner Ehefrau Frieda, geb. Heubl
1965-1969	Volksschule München-Moosach
1969-1978	Erasmus-Grasser-Gymnasium (mathematisch-naturwissenschaftlicher Zweig) München-Fürstenried
1978	Abitur in den Fächern Physik, Geschichte, Deutsch und Wirtschaftslehre
1978-1979	Studium der Physik und Informatik an der TU München
Mai 1979	Studium der Humanmedizin an der LMU-München - 1981 Ärztliche Vorprüfung - 1982 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung - 1984 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung - Mai 1985 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
August 1985- Oktober 1986	Wehrdienst als Stabsarzt beim Gebirgsschubbataillon 8 in Mittenwald
Seit November 1986	Assistenzarzt am Klinikum rechts der Isar bei Herrn Prof. Dr. J. R. Siewert
Familienstand	ledig

